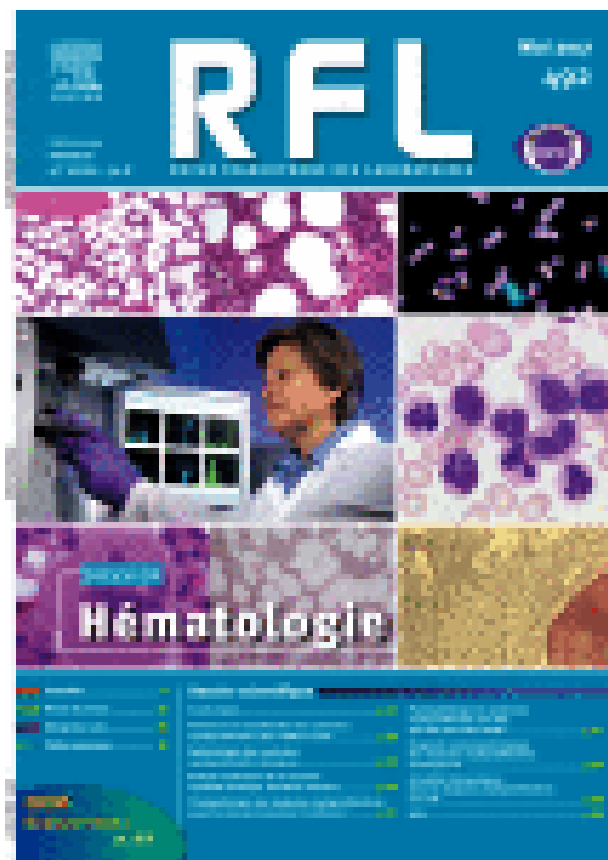




Revue Francophone des Laboratoires



**Volume 2017, Issue
492, Pages 3-74
(Mai 2017)**

 LEMONDEDESPHARMACIENS

 [LEMONDEDESPHARMACIENS](https://www.facebook.com/LEMONDEDESPHARMACIENS)

 [#LemondedesPharm](https://twitter.com/LemondedesPharm)

Elsevier Masson SAS
Société par actions simplifiées
à associé unique
au capital de 47 275 384 €
RCS Nanterre B 542 037 031
65, rue Camille-Desmoulins
92130 Issy-les-Moulineaux



Tél./Fax: 01 71 16... + les 4 chiffres
de votre correspondant
<http://www.elsevier-masson.fr>

PRÉSIDENT ET DIRECTEUR DE LA PUBLICATION :
Daniel Rodriguez

**DIRECTRICE DES REVUES PROFESSIONNELLES,
RÉDACTRICE EN CHEF :**
Yasmina Ouharzoune
y.ouharzoune@elsevier.com

CONSULTANT SCIENTIFIQUE DE LA RÉDACTION :
Claude Naudin
clnaudin@numericable.fr

COLLABORATEURS DE LA RÉDACTION :
Revue de presse :
Joël Gozlan, Marie-Caroline Le Bousse-Kerdilès,
Vincent Maréchal, Michel Segondy
Actualités — Santé publique — Veille juridique :
Jean-Marie Manus

FAX-RÉDACTION : 01 71 16 51 59

MARKETING — RESPONSABLE DE MARCHÉ :
Sonia Tadjdet (58 60)
s.tadjdet@elsevier.com

PUBLICITÉ — RESPONSABLE DE PUBLICITÉ :
Nicolas Zarjevski (51 38)
Mobile: 06 14 68 51 26
n.zarjevski@elsevier.com

SERVICE ABONNEMENTS :
Tél. : 01 71 16 55 99 – Fax: 01 71 16 55 77
<http://www.em-consulte.com/infos>

PAO : humancom
2 bd Général de Gaulle, 92120 Montrouge
IMPRESSION :
Lescure Théol, 27 Douains.

Copyright © 2017 — Elsevier Masson SAS — Tous droits réservés. Cette publication et son contenu sont protégés par le copyright de Elsevier Masson SAS, et les dispositions suivantes s'appliquent à son utilisation : Les simples photocopies d'articles isolés sont autorisées pour un usage privé, dans la mesure où les lois nationales relatives au copyright le permettent. L'autorisation de l'éditeur et le paiement de redevances est obligatoire pour toutes les autres photocopies, y compris les copies multiples ou systématiques, les copies effectuées à des fins promotionnelles ou de publicité, la revente et toute autre forme de distribution de documents. Des tarifs spéciaux sont disponibles pour les institutions d'enseignement qui souhaitent faire des photocopies à des fins non commerciales d'enseignement. Les personnes peuvent obtenir les autorisations nécessaires et payer les redevances correspondantes auprès du Centre Français d'Exploitation du Droit de la Copie (20, rue des Grands-Augustins, F - 75006 Paris). Les abonnés sont autorisés à effectuer des copies des tables des matières, ou établir des listes d'articles comprenant des extraits pour un usage interne à l'intérieur de leurs institutions. L'autorisation de l'éditeur est requise pour toute revente ou divulgation en dehors de l'institution. L'autorisation de l'éditeur est requise pour tous autres travaux dérivés, y compris les compilations et les traductions. L'autorisation de l'éditeur est requise pour saisir de façon électronique tout élément contenu dans la présente publication, y compris tout ou partie d'un article. Prière de prendre contact avec l'éditeur à son adresse indiquée ci-dessus. À l'exception de ce qui est indiqué ci-dessus, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite, saisie dans un système de sauvegarde, ou transmise sous quelque forme que ce soit, électronique, mécanique, par photocopie, enregistrement ou autre, sans l'autorisation préalable et écrite de l'éditeur. La responsabilité de l'éditeur ne saurait en aucune façon être engagée pour tout préjudice et/ou dommage aux personnes et aux biens, que cela résulte de la responsabilité du fait des produits, d'une négligence ou autre, ou de l'utilisation de tous produits, méthodes, instructions ou idées contenus dans la présente publication. En raison de l'évolution rapide des sciences médicales, l'éditeur recommande qu'une vérification extérieure intervienne pour les diagnostics et la posologie.

Dépôt légal : à parution

Couverture

© PEGGY GREB/SPL/PHANIE/ DEPT. OF CLINICAL
CYTOGENETICS, ADDENBROOKS HOSPITAL/
SPL/PHANIE-IMBERT- BURRONI

Index des annonceurs

Beckman 15
Elsevier Masson 4 - 7 - 22 - 2^e de couv - 4^e de couv

édito

Qui en veut aux statines ?

Après la diffusion récente sur Arte d'un documentaire : *Cholestérol, le grand bluff*, l'Académie nationale de médecine craint que le titre, le contenu et le débat qui a suivi aient mis en danger (*sic*) la santé de patients doutant de leur traitement. Et défend les statines.

L'hypercholestérolémie à LDL-cholestérol est associée au surrisque d'accidents cardio-cérébrovasculaires, surtout s'il y a tabagisme, HTA, diabète, hypercholestérolémie familiale, cas familiaux d'accident précoce. Il y a un surrisque post-infarctus du myocarde (IDM) ou AVC.

On sait que la réduction du taux sérique de LDL-cholestérol réduit aussi l'incidence d'accident vasculaire, *quelle que soit la méthode thérapeutique : diététique, statines, résines, souligne l'Académie : des données scientifiques solides et probantes expliquent que toutes les recommandations internationales préconisent de diminuer le taux de cholestérol en cas de haut ou très haut risque vasculaire.*

De larges études épidémiologiques (*nombreuses références*) confirment l'utilité des statines pour réduire le LDL-cholestérol et prévenir une récurrence cardio-cérébrovasculaire post-IDM ou AVC non hémorragique : les statines y apparaissent un élément *clé de prévention secondaire*, avec arrêt du tabac, régime pauvre en graisses animales, maîtrise du diabète et de l'HTA, insiste l'Académie.

Des arguments *contre* ? Les statines peuvent certes [le plus souvent à posologie élevée] provoquer des douleurs musculo-tendineuses chez 10 % des sujets traités, voire, mais rarement, un diabète de type 2, disent les Sages. Mais ces effets indésirables, *que le suivi médical régulier doit dépister le plus tôt possible*, sont réversibles à l'arrêt du traitement, ou si le prescripteur réduit la posologie ou propose une alternative thérapeutique.

La rareté de ces effets ne peut remettre en cause le bénéfice des statines en prévention d'accidents vasculaires, dit l'Académie, sous l'autorité de spécialistes, les Prs Michel Komajda, Jean-Luc de Gennes, Jacques Bringer et Claude Jaffiol.

L'Académie de médecine met en garde les patients à haut risque *sur les conséquences potentiellement dangereuses d'un arrêt intempestif* [de leur propre chef] d'un hypocholestérolémiant, sans en parler au prescripteur, une décision délétère qu'ils pourraient regretter.

RFL

Conseil scientifique

PRÉSIDENT : Paul LAFARGUE (*Paris*).

BUREAU : Bruno BAUDIN (*Paris*), Dominique CHABASSE (*Angers*), Alain CHEVAILLER (*Angers*), Éric GARNOTEL (*Marseille*), Michèle IMBERT (*Créteil*), Marie-Laure JOLY-GUILLOU (*Angers*), Marc MAYNADIÉ (*Dijon*), Michel SEGONDY (*Montpellier*).

MEMBRES : Frédéric BARBUT (*Paris*), Smail BELAZZOUG (*Algérie*), Patrice BOURÉE (*Le Kremlin-Bicêtre*), Afcène DEMBRI (*Algérie*), Claude GUIGUEN (*Rennes*), Paul HOFMAN (*Nice*), François JEHL (*Strasbourg*), Saïd KAMEL (*Amiens*), Marie-Nathalie KOLOPP-SARDA (*Lyon*), Jean-Jacques LATAILLADE (*Clamart*), Jean-Philippe LAVIGNE (*Nîmes*), Jérôme LE GOFF (*Paris*), Michèle MALET (*Caen*), Vincent MARÉCHAL (*Paris*), Denis MASSIGNON (*Lyon*), Hicham OUZZANI (*Maroc*), Thierry MOLINA (*Paris*), Lassaad SARRAI (*Tunisie*), Abderrahim TAZI (*Maroc*), Valérie UGO (*Angers*).

MEMBRES HONORAIRES : Marie-Hélène BESSIÈRES (*Toulouse*), René CHERMETTE (*Maisons-Alfort*), Jean-Louis KOECK (*Bordeaux*), Anne-Marie MANEL (*Champagne-au-Mont-d'Or*), Jean-Claude NICOLAS (*Chatou/Princeton, USA*), Martine TIROUCHE †, Michel VAUBOURDOLLE (*Paris*).

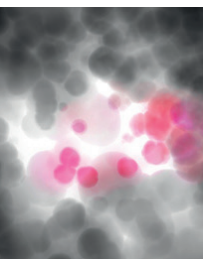
BRÈVES



ITA contre allergies

L'immunothérapie allergénique (ITA) est un traitement innovant efficace des maladies allergiques respiratoires : asthme, rhinite et conjonctivite. Outre la réduction des symptômes, l'ITA peut modifier l'évolution de la maladie allergique et agir à long terme (7 à 12 ans) après arrêt du traitement, induisant une tolérance spécifique à l'allergène. En pratique courante, elle est administrée par voie sous-cutanée ou sublinguale. Elle peut également prévenir le développement de l'asthme et une sensibilisation à de nouveaux allergènes. Malgré les progrès accomplis, d'autres approches sont nécessaires, particulièrement pour les patients souffrant d'asthme et d'allergies respiratoires moins fréquentes ou multiples, ou bien d'allergies non respiratoires (dermatite atopique, allergies alimentaires). Ces nouvelles approches d'amélioration de l'ITA portent sur l'utilisation d'adjuvants ou d'allergènes recombinants, de peptides, ainsi que de nouvelles voies d'administration.

Source : Pr Pascal Demoly (Explorations des allergies & maladies respiratoires, CHU A. de Villeneuve, Montpellier), communication à l'Académie de médecine.



Glivec® au long cours : pas de problème

Traitement ciblé de la leucémie myéloïde chronique (LMC) salué à sa sortie en 2001, Glivec® (imatinib, Novartis) au long cours pose-t-il un problème de santé additif ?

Non, selon une étude du CHU d'Iena (Andreas Hochhaus et coll.) dans le *New England Journal of Medicine* du 9 mars. La molécule assure la survie de plus de 83 % des patients à 10 ans, rejoignant une espérance de vie quasi-normale, selon les données chez plus de 500 patients. Dans les premiers temps de l'imatinib, on se demandait si le risque d'effets indésirables (notamment cardiovasculaires) allait se manifester. Aujourd'hui la communauté médicale est rassurante, notamment à long terme, d'où l'intérêt d'un suivi prolongé des patients, même stabilisés grâce à une réponse thérapeutique durable [dont on doutait en 2001] chez presque tous les sujets traités quotidiennement, la molécule ayant pour cible le produit du gène BCR-ABL, impliqué dans le développement de la LMC. Avant 2001 moins du tiers des patients traités survivaient, aujourd'hui l'imatinib puis les autres molécules proches apparues depuis ont changé le pronostic.

Source : HealthDay News.



Syphilis : situation préoccupante !

Ainsi le Pr Michel Janier¹, inquiet devant l'Académie de médecine, décrit-il cette IST réapparue en fin des années 1990 et qui progresse. Les plus vulnérables dans 90 % des cas : les homosexuels masculins (HM).

Car... il n'y a pas eu d'actions coordonnées et efficaces des autorités de santé, qui ont contribué à « laisser s'épanouir l'épidémie du fait de décisions irresponsables » : surveillance épidémiologique insuffisante, suppression du fond noir de la nomenclature, arrêt de production de la benzathine-pénicilline G (BPG), suppression du Centre National de Référence (CNR) de la syphilis et en 2000 de la déclaration obligatoire (DO insuffisamment respectée !), alors que les spécialistes des MST de la Société française de dermatologie (SFD) alertaient de la réémergence chez les HM.

Ainsi depuis 2000 les cas de syphilis précoce ne cessent d'augmenter : 1 100 cas en 2014 contre 700 en 2012, touchant en grande majorité les HM (83 %), dont 34 % VIH-positifs. L'InVS manque de moyens accordés, les derniers résultats disponibles sont ceux de 2014...

Le réseau de surveillance de l'InVS groupe actuellement 101 centres volontaires. Pour la prévention, le Pr Janier note que les campagnes de l'INPES (Institut national de prévention et d'éducation pour la santé) contre les MST « ont été fort discrètes ces 10 dernières années ».

Autre préoccupation, la mauvaise information des jeunes sur les MST, contrairement aux HM multipartenaires plus âgés « qui ont moins peur des MST », considérant qu'on peut aisément les traiter, et ont des conduites à risque dès qu'ils se considèrent protégés du VIH : partenaires séroconcordants (serosorting) ; TAP (treatment as prevention) ; sexe oral ; PrEP (pre-exposure prophylaxis)...

Or la syphilis est une maladie potentiellement mortelle ou pouvant conduire à des accidents précoces, neurologiques, oculaires et auditifs très graves. Elle se transmet par le sexe oral, pratiqué sans protection.

Il y a eu de mauvaises décisions de santé publique, dit le Pr Janier.

- En 2015 la suppression à la nomenclature de l'examen au microscope à fond noir sous prétexte d'une sensibilité faible et... que plus personne ne savait le faire ! « Les PCR de *Treponema pallidum* sont beaucoup plus sensibles mais elles n'ont pas été inscrites à la nomenclature du fait de leur coût... Les sérologies de la syphilis se positivent avec retard (5 à 15 jours après le début du chancre primaire)... l'examen clinique ne permet en aucun cas de poser un diagnostic de certitude devant une ulcération génitale ».
- Sanofi a interrompu la commercialisation d'Extencilline® en 2013. Or la BPG permettait en une seule intramusculaire d'obtenir un taux de pénicilline circulante/tissulaire suffisant à traiter les syphilis précoces. « Le relais a été pris par une pénicilline-retrait importée d'Italie (Sigmacilline®), dit le Pr Janier, qui, moyennant un coût multiplié par 10, a permis de sauver la situation... ». Oui mais : 2 injections obligatoires, conservation au froid, disponibilité hospitalière. Heureusement le Laboratoire Sandoz a repris la fabrication d'une benzathine-pénicilline G en poudre.
- Décision de supprimer le CNR de la syphilis qui rejoint le CNR des MST (gonococcies, chlamydias et mycoplasmes), avec le risque... d'une baisse des crédits...
- Dernière critique : contre les CeGIDD (centres gratuits d'information de dépistage et de diagnostic du VIH et des IST) d'où les dermato-vénérologues ont été gentiment exclus ou satellisés (sic) au profit des acteurs de la santé sexuelle. ■■

J.-M. M.

1. Professeur au Collège de médecine des Hôpitaux de Paris, Centre clinique et biologique des MST, Hôpital Saint-Louis-AP-HP ; Service de dermatologie, Hôpital Saint-Joseph. michel.janier@aphp.fr

Immuno-chimiothérapie antitumorale à la française

La biopharma Transgène (Strasbourg), filiale de l'Institut Mérieux, et le Centre anticancéreux Léon-Bérard (Lyon), ont débuté un essai de phase 1 d'un produit d'immunothérapie de Transgène, Pexa-Vec, associé à une chimiothérapie par l'ipilimumab (Yervoy®, BMS), administrés en intratumoral et destinés à plusieurs types de tumeurs solides ayant échappé à un traitement standard.

Pexa-Vec est un virus oncolytique issu de la vaccine, vectorisé avec le gène GM-CSF, co-développé par Transgene et son partenaire SillaJen Inc. L'ipilimumab est un anticorps monoclonal indiqué dans le traitement du mélanome, qui cible le récepteur CTLA-4, une cible immunitaire. Pexa-Vec (pexastimogene devacirepvec) devrait susciter une réponse immunitaire antitumorale, étant conçu pour cibler et détruire sélectivement les cellules cancéreuses selon trois modes d'action : lyse et nécrose de la tumeur par la réplication du virus oncolytique, activité anti-angiogénique sur la vascularisation intratumorale, stimulation de la réponse immunitaire. Pexa-Vec est principalement testé dans le carcinome hépatocellulaire (HCC) mais sera également testé dans d'autres indications, précise Transgene, qui en détient les droits exclusifs en Europe pour le développement et la commercialisation. Son partenaire SillaJen développe Pexa-Vec pour l'Amérique du Nord et en a accordé les droits exclusifs à Lee's Pharmaceuticals pour Hong Kong et la Chine. L'essai clinique de phase 1, dont le Centre Léon Bérard est le promoteur (coor-

nateur : Dr Aurelien Marabelle, Institut Gustave-Roussy), recrutera des patients porteurs de tumeurs solides localisées avancées et/ou métastatiques. Cet essai ouvert comptera jusqu'à 60 patients dans plusieurs centres cliniques en France. Les premiers résultats pourraient être évalués à la fin de cette année. L'essai a pour but d'évaluer la tolérance de l'association de Pexa-Vec/ipilimumab et d'identifier les premières données d'efficacité thérapeutique. L'essai espère confirmer le postulat selon lequel l'association Pexa-Vec/ipilimumab pourrait être significativement plus efficace que chaque traitement administré seul... ce qu'il est logique d'espérer. Virus oncolytique, Pexa-Vec a un mode d'action et un profil de sécurité qui en font un bon candidat pour diverses associations thérapeutiques, l'ipilimumab lève les freins à la réponse immunitaire, améliorant ainsi potentiellement l'action anticancéreuse de Pexa-Vec, selon Transgene.

C'est ce qu'exprime le Dr Aurélien Marabelle, PhD, de Gustave Roussy, expert en immunothérapie, convaincu de la synergie de l'association de virus oncolytiques avec des ACM actifs sur la réponse immunitaire, d'autant que la co-administration intratumorale peut optimiser la réponse antitumorale tout en évitant sa toxicité systémique et en levant la résistance à l'immunothérapie souvent observée. Transgene développe des immunothérapies ciblées contre les cancers et les maladies infectieuses à base de vecteurs viraux ciblant les cellules infectées ou cancéreuses. Deux de ces produits sont en développement : TG4010, vaccin thérapeutique contre le cancer bronchique non à petites cellules, et Pexa-Vec. D'autres programmes en développement préclinique et clinique sont basés sur sa technologie des vecteurs viraux, tel TG4001. ■■

J.-M. M.

Source : Transgène (Strasbourg).
www.transgene.fr

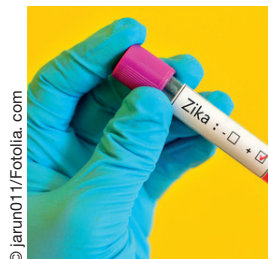


© Pointimages / Fotolia.com

BRÈVES

Avant un don de sang, cherchez Zika

La FDA a recommandé de tester en routine tous les dons de sang à la recherche du virus Zika de façon à sécuriser l'approvisionnement du pays en réserves de sang et produits dérivés du sang. Cette décision est prise car il y a encore beaucoup d'incertitude concernant



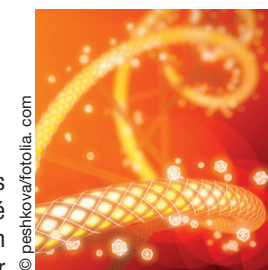
© Jarun011/Fotolia.com

la nature et l'extension de la transmission du virus Zika, selon le Dr Peter Marks, directeur à la FDA du Centre pour l'évaluation et la recherche des produits biologiques. Le contrôle en routine de tous les dons de sang et des produits dérivés est la seule façon d'éviter de possibles contaminations de receveurs. Les premiers territoires à tester les dons avant la généralisation demandée par la FDA ont été la Floride et Porto Rico : c'est l'un des moyens d'empêcher la circulation du virus, une mesure qui restera en place « jusqu'à ce que la menace de transmission de Zika soit réduite ». ... Transfusions et rapports sexuels sont les deux voies connues de transmission du virus. Cette mesure est essentielle : 80 % des porteurs du virus n'ont aucun symptôme, seul l'analyse de sang peut les identifier.

Source : FDA.

Deux gènes de survie au cancer du sein

Évaluer l'activité de 2 gènes aiderait à prédire la probabilité de survie à un cancer du sein et à orienter le traitement. Pour les auteurs (Paul Huang, Paul Workman et coll., *Institute of Cancer Research*, Londres) d'une étude parue dans *Oncotarget* cela permettrait de mieux comprendre le processus métastatique et d'identifier les patientes à haut risque. Ils ont étudié près de 2 000 tumeurs, se concentrant sur les tumeurs HER-2+, soit environ 20 % des cancers du sein. P. Huang et coll. ont découvert que les patientes dont les tumeurs montrent une haute activité du gène F12 mais une faible activité du gène STC2 ont trois fois plus de risque de décès à 10 ans, comparées aux femmes ayant une activité différente de ces gènes. L'activité spécifique de ces gènes serait en relation avec la capacité de la tumeur à métastaser. Ceci pourrait aider à développer un test pour les tumeurs agressives ou de nouvelles cibles thérapeutiques. Si le taux de survie est plus élevé qu'il y a plusieurs décennies, ce cancer reste létal une fois disséminé, disent les auteurs ; sur ce point l'étude pourrait comporter des avancées prometteuses.



© peshkova/fotolia.com

BRÈVES

Anosmie, signe d'alarme d'Alzheimer ?

La perte de l'olfaction associée à des pertes de mémoire serait prédictive du risque de maladie d'Alzheimer, selon une étude du Département de neurologie du *Massachusetts General Hospital* (MGH) de Boston (Dr Mark Albers et coll.) chez 183 personnes âgées. Les médecins ont testé la capacité des participants à reconnaître, se souvenir de et à discriminer diverses odeurs : menthol, cuir, fraise, lilas, pamplemousse, fumée, savon, raisin, citron, clou de girofle... Un second test leur a été proposé avec de nouvelles odeurs venant s'ajouter aux premières. Parallèlement les sujets de l'étude ont bénéficié de tests génétiques, d'imagerie et de mémoire. En combinant les épreuves d'olfaction et les tests cliniques, l'équipe de Boston a constaté que la perte du sens de l'olfaction (anosmie) semble augmenter le risque d'Alzheimer. Ce phénomène est à relier à la neurodégénérescence qui caractérise la maladie et serait même observable 10 ans avant la perte de mémoire, autre caractéristique de l'Alzheimer. Reste à savoir si un traitement précoce pourrait retarder l'émergence de la maladie.

Source : MGH, communiqué de presse.

Maladie de Fabry : un OK de la FDA

La *Food and Drug Administration* a récemment accordé une revue prioritaire (*fast track*) à une molécule développée par le Laboratoire Genzyme pour le traitement de la maladie de Fabry. Il s'agit du GZ/SAR402671, un traitement oral. Genzyme (Cambridge, Massachusetts) est la division biopharma du groupe Sanofi. La revue accélérée d'une nouvelle molécule est accordée aux futurs médicaments qui répondent à des maladies sévères ou à risque léthal qui manquent de traitements actifs (*besoins médicaux non satisfaits*). Une étude de phase 2 est en cours au niveau international. La maladie de Fabry est une maladie lysosomale, maladie rare (donc justiciable d'un médicament *orphan*), sa gravité est due aux multi-dépôts organiques (rein, cœur, cerveau) et tissulaires d'une substance lipidique (globotriaosyl-céramide, ou GL-3 ou Gb3). Le GZ/SAR402671 est un inhibiteur de la glucosyl-céramide synthase, qui bloque la formation de glucosyl-céramide (GL-1), précurseur de la synthèse de GL-3. C'est une maladie héréditaire marquée par une accumulation progressive de GL-3, qui réduit l'espérance de vie. Environ 10 000 patients ont été diagnostiqués dans le monde.

Baclofène contre alcoolo-dépendance : un an de sursis

Le baclofène comme soutien pharmacologique au sevrage alcoolique fait l'objet depuis plusieurs années d'essais attentifs en France. Deux études cliniques, *Alpadir* et *Bacloville*, sont en cours, ainsi que l'étude CNAMTS-ANSM. L'ANSM a annoncé le 16 mars qu'elle renouvelle la Recommandation temporaire d'utilisation (RTU)¹ pour une durée d'un an, qu'elle avait autorisée pour trois ans en mars 2014 pour la prise en charge de l'alcoolo-dépendance.

Afin d'encadrer l'utilisation hors AMM de comprimés de baclofène (Lioréal® 10 mg, Baclofène Zentiva 10 mg,) dans le traitement de l'alcoolo-dépendance, l'ANSM a élaboré le 17 mars 2014 une RTU pour une durée de 3 ans. Parallèlement, les deux études cliniques, ont été conduites en France dans cette pathologie pour évaluer l'efficacité et la sécurité dans ce contexte du baclofène.

Dans l'attente des résultats d'une étude CNAMTS-ANSM portant sur la sécurité et des rapports définitifs de ces deux études cliniques, l'ANSM a décidé de renouveler ce dispositif pour une période d'un an à compter du 17 mars 2017. Depuis 2014, seuls 7 000 patients *environ*, indique l'ANSM, sont enregistrés sur le portail de la RTU.

Compte tenu de ce *faible taux d'adhésion des professionnels de santé* (*sic*) au dispositif et de la notion d'une utilisation persistante non encadrée (hors RTU) du baclofène chez des patients alcoolo-dépendants, l'ANSM a décidé une révision de la RTU dans l'intention de sécuriser l'accès au baclofène : à l'origine le baclofène est un myorelaxant. Le Comité scientifique spécialisé temporaire (CSST) de l'ANSM, qui regroupe addictologues, généralistes et psychiatres impliqués dans la prise en charge des patients alcoolo-dépendants, a révisé la RTU « *dans un but d'optimisation et de meilleure adhésion des professionnels de santé à ce dispositif pour la sécurité des patients concernés* ». Quant à la pharmacovigilance des prescriptions du baclofène aux sujets alcoolo-dépendants elle est régulièrement évaluée par le Centre régional de pharmacovigilance d'Amiens.

C'est donc sur la base des recommandations du CSST et du Comité technique de pharmacovigilance qu'une nouvelle version du protocole de la RTU du baclofène s'est appliquée à compter

17 mars 2017. Ainsi le baclofène pourra être *prescrit en première intention* dans deux situations : aide au maintien de l'abstinence après sevrage ; réduction de la consommation d'alcool.

À noter : *une très grande prudence* est demandée en cas de prescription aux patients présentant des troubles psychiatriques, en raison du risque d'aggravation d'une pathologie sous-jacente et/ou d'un possible risque suicidaire. Les modalités pour la prise en charge de ces patients sont détaillées dans le nouveau protocole.

Concernant les patients épileptiques ou présentant des antécédents de crises, à risque de baisse du seuil épileptogène avec prescription du baclofène, le traitement doit être très progressif sous surveillance étroite durant le traitement. Tout effet indésirable dans le cadre de la RTU susceptible d'être dû au baclofène doit être déclaré à l'ANSM (formulaire de déclaration disponible sur son site). Rappels essentiels de l'ANSM : le traitement doit être instauré très progressivement, sa posologie doit être adaptée en fonction de la tolérance du patient et de l'efficacité observable ; la posologie doit être réduite très progressivement à l'arrêt du traitement, car il y a risque de syndrome de sevrage. ■■

J.-M. M.

Source : www.ansm.sante.fr

1. Les Recommandations Temporaires d'Utilisation (RTU) ont une durée maximale de 3 ans renouvelable.

L'ANSM peut encadrer des prescriptions non conformes à l'autorisation de mise sur le marché (AMM), sous réserve qu'il existe un besoin thérapeutique et que le rapport bénéfice/risque du médicament soit présumé favorable, à partir de données scientifiques d'efficacité et de tolérance. Leur objectif est de sécuriser l'utilisation des médicaments par mise en place d'un suivi des patients organisé par les laboratoires concernés [ici Novartis et Sanofi].

Coalition internationale en génétique du cancer du sein

La publication dans *Nature* il y a quelques mois des premiers résultats du séquençage du génome entier de 560 tumeurs du sein par le Consortium international de génomique du cancer (ICGC) n'a pas eu l'attention des médias. Or c'est le plus grand nombre d'échantillons de cancers entièrement séquencés.



Cette collaboration internationale, codirigée à l'origine par un spécialiste français, le regretté Pr Gilles Thomas (Fondation Synergie Lyon Cancer, France) et le Pr Michael Stratton (*Welcome Trust, Sanger Institute*, Royaume Uni), a été créée en 2008 pour fédérer l'analyse de 50 types ou sous-types de tumeurs par des groupes du monde entier travaillant organe par organe pour identifier en quasi-totalité les altérations génétiques à l'origine de cancer.

L'Institut national du cancer (INCa) a assuré la coordination du programme en France et son financement depuis 2008, marquant ainsi son engagement précurseur dans la recherche génomique au service de la médecine personnalisée. Les patientes participantes ont été recrutées dans le cadre d'essais (PHARE, SIGNAL) soutenus par l'INCa.

Avant ce travail, seules les séquences d'ADN situées dans les régions codant une protéine (exomes), représentant quelques *pourcents* de l'ensemble du génome, expliquent l'INCa, avaient été étudiées dans le cancer du sein. Or d'autres altérations du génome, très larges ou affectant les régions non-codantes, peuvent influencer

l'oncogenèse et être détectées par un séquençage génomique complet.

Le séquençage du génome complet de l'ADN de 560 tumeurs du sein et des échantillons de sang correspondants a abouti à l'identification de plus de 1 600 altérations suspectées d'être à l'origine du développement tumoral. Elles concernent 93 gènes différents et la quasi-totalité (95 %) des tumeurs en présente au moins une.

Les résultats de ce programme de recherche permettent ainsi une connaissance approfondie des causes des cancers du sein, l'objectif étant de développer des traitements plus actifs.

L'étude a montré que le génome tumoral de certaines patientes présente des *signatures génomiques* semblables à celui de patientes positives pour BRCA1/2. Ceci suggère que ces profils génomiques seraient de meilleurs tests diagnostiques pour proposer aux premières les traitements utilisés chez les patientes BRCA1/2, tels les inhibiteurs de PARP ou les sels de platine.

Pour recruter les patientes chaque centre investigateur met en place des équipes en clinique, anatomo-pathologie et recherche

clinique. Les échantillons de sang sont conservés à la Fondation Jean-Dausset/CEPH (Paris) et les tumeurs au Centre Léon-Bérard (Lyon). Près d'une centaine de chercheurs a contribué à ce programme, dirigé par Pr Gilles Thomas, généticien de renommée mondiale, et Alain Viari (Fondation Synergie Cancer). Ses données sont à la disposition de la communauté internationale². ■■

J.-M. M.

Source : IncA. Lien ICGC : www.icgc.org (en anglais)

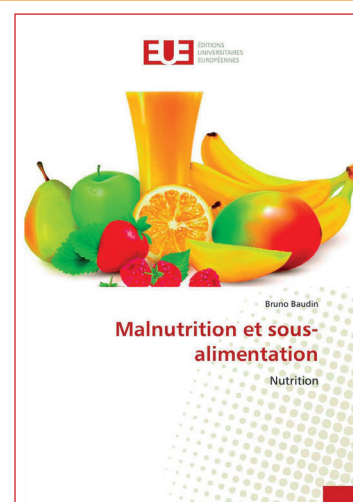
1. Institut Curie, Paris ; Centre Léon Bérard, Lyon ; Institut Bergonié, Bordeaux ; Georges-François Leclerc, Dijon ; Institut Paoli-Calmettes, Marseille ; Gustave Roussy, Villejuif ; Centre Jean Perrin, Clermont-Ferrand ; ICM Institut Régional du Cancer, Montpellier ; Centre Alexis Vautrin, Nancy ; Centre Antoine Lacassagne, Nice ; Clinique Mutualiste de Bellevue, Saint-Étienne ; CHU de Besançon, Besançon ; Synergie Lyon Cancer, Lyon ; CEPH/Fondation Jean Dausset, Paris ; Institut National du Cancer, Boulogne-Billancourt.

2. www.e-cancer.fr/Professionnels-de-la-recherche/Projets-europeens-et-internationaux/ICGC

Malnutrition et sous-alimentation

Le Dr Bruno Baudin, membre du bureau du Conseil scientifique de la RFL vient de publier *Malnutrition et sous-alimentation*, Éditions Universitaires Européennes. Il y a la malnutrition, état pathologique causé par l'excès ou le défaut en un ou plusieurs nutriments ; il peut s'agir d'une carence en vitamines, protéines, sels minéraux ou oligoéléments. Il y a la malnutrition par excès qualitatifs/quantitatifs, maladie des pays riches avec surconsommation de graisses saturées, de sucres rapides et de sel, facteurs de risque de maladies cardiovasculaires (MCV), diabète, obésité et anomalies métaboliques. La sous-alimentation règne là où sévissent guerres, épidémies, sécheresse ; c'est la « faim visible » qui tend à diminuer, mais ne doit pas cacher la « faim invisible » avec son cortège de déficits en minéraux et en vitamines ; les enfants et les femmes sont particulièrement touchés. La mortalité par sous-nutrition augmente (les MCV sont la première cause de décès dans les pays occidentaux) et semble régresser, bien qu'elle progresse dans les pays en développement.

Éditions Universitaires Européennes. 84 p. www.editions-ue.com/catalog



Myopathie de Duchenne: nouveau traitement en vue

La FDA, qui n'accorde pas son feu vert sans discernement, a approuvé au début de février, la deflazacort (Emflaza®, Marathon Pharmaceuticals) en comprimés et suspension orale pour le traitement de la myopathie de Duchenne (*Duchenne muscular dystrophy/DMD*) chez les patients à partir de 5 ans, maladie génétique caractérisée par une perte progressive de la masse musculaire et de la force musculaire, et un risque léthal.

Emflaza® est un corticostéroïde qui agit en réduisant l'inflammation et l'activité du système immunitaire (effet immunosuppresseur). Son efficacité a été évaluée dans une étude clinique chez 196 patients de sexe masculin âgés de 5 à 15 ans au début de l'étude, chez lesquels avait été confirmée la mutation délétère du gène codant la dystrophine, et dont la maladie avait été confirmée avant l'âge de 5 ans. À 12 semaines de l'étude, les patients sous deflazacort bénéficiaient d'une amélioration de leur force musculaire, testée cliniquement sur plusieurs groupes musculaires, comparativement aux patients du groupe placebo. Cela s'est traduit par un ralentissement du déclin de la capacité

fonctionnelle musculaire. Une stabilité globale de la force musculaire obtenue a été maintenue jusqu'à la fin de l'étude (semaine 52) chez les patients traités. Une autre étude concernant 29 patients masculins durant 104 semaines a confirmé la supériorité du deflazacort contre placebo sur la récupération d'une force musculaire moyenne. Un autre aspect positif à confirmer: les patients sous deflazacort semblent perdre plus tard dans l'évolution de la DMD leur capacité à marcher par rapport aux patients des groupes placebo. La perte de cette capacité est l'un des premiers signes de l'évolution de cette myopathie [NDLR].

Le feu vert de la *Food & Drug Administration* a été salué par l'association de familles de patients *CureDuchenne*, qui souligne que pour la première fois les patients touchés par la Duchenne muscular dystrophy ont [auront] la disponibilité d'un traitement approuvé par la FDA, c'est une étape importante qui se traduit par un ralentissement de la perte de la capacité fonctionnelle. Le Laboratoire Marathon a prévu un accès compassionnel des patients au deflazacort avec l'accord de la FDA (Département des produits de neurologie, Centre d'évaluation et de recherche du médicament), qui a prévu une procédure accélérée d'enregistrement (*fast track*) du



© JérémieHas/Fotolia.com

deflazacort, labellisé médicament orphelin. La DMD est le type de myopathie, due à une absence ou à une mutation de la dystrophine, protéine essentielle à la viabilité des myocytes. Les premiers signes apparaissent entre 3 et 5 ans et s'aggravent progressivement. La DMD affecte le garçon, mais peut aussi apparaître chez la fille. Outre la perte de la marche, la DMD est marquée par des complications cardiaques et respiratoires. à risque léthal. Le décès peut survenir entre la 20^e et la 30^e année, mais l'espérance de vie est variable, selon le score de sévérité de la maladie. ■■

J.-M. M.

Liens: www.marathonpharma.com, www.emflaza.com, www.CureDuchenne.org, www.fda.gov.

Décret Trump anti-immigration: scientifiques étrangers y compris ?



Dans une lettre publiée *on line* le 7 février dans *Nature Biotechnology*, trois responsables de sociétés américaines de biotechnologie, Jeremy Levin (Ovid Therapeutics), Steven Holtzman (Decibel Therapeutics) et Bassil Dahiyat (Xencor), s'expriment au nom de plus de 150 confrères responsables de biotechs, « profondément soucieux » de l'impact sur celles-ci de la décision du président Trump d'interdire l'entrée aux USA de certains étrangers.

Ce décret vise à empêcher l'entrée aux USA de citoyens de 7 pays musulmans. Les trois signataires expriment leur opposition à cette mesure exécutoire, avant parution de leur lettre dans le numéro de mars de *Nature Biotechnology*. Les biotechs américaines, surtout des petites sociétés et des *start-up* [comme

en Europe], contribuent à l'industrie biopharmaceutique, à la découverte de nouveaux médicaments et plus largement à la croissance économique nationale. Pour se développer, disent les signataires, elles doivent recruter parmi les 69 000 chercheurs biomédicaux qui travaillent aux USA, dont plus de la moitié sont des étrangers, qui

Or Jeremy Levin, Steven Holtzman et Basil Dahiyat avertissent : *ces sujets employés dans les biotechs interprètent la décision de Trump comme le fait que l'Amérique ne veut plus désormais accueillir les immigrants, non seulement ceux des 7 pays visés, mais aussi ceux de n'importe quel pays!* Les signataires le disent : *cette décision [une seconde version est prévue, la première ayant été jugée illégale-NDLR] menace le leadership des USA en biotechnologie...*

J. Levin, S. Holtzman et B. Dahiya, au nom de tous leurs collègues et confrères du secteur des biotechs, concluent que

J.-M. M.

Sources: jlevin@ovidrx.com, sholtzman@decibeltx.com, baz@xencor.com.

La voie du glutamate plutôt que celle de la dopamine: c'est l'option que développe la biopharma Prexton Therapeutics (Genève et Amsterdam) engagée dans la recherche en thérapeutiques neurologiques.

On sait que les traitements actuels de la maladie de Parkinson visent à compenser la carence cérébrale en dopamine, sous forme de L-dopa, son précurseur. Cependant son efficacité s'atténue progressivement avec l'évolution de la maladie et des effets secondaires gênants apparaissent telle que la dyskinésie.

L'approche de Prexton vise à stimuler le système neuronal compensateur qui n'est pas touché par la maladie de Parkinson. Plutôt que de cibler le système dopaminergique, Foliglurax® active une cible spécifique du système glutamatergique (mGluR4). L'objectif est de traiter les symptômes moteurs de la maladie de Parkinson.

Un essai clinique de phase 1 avec Foliglurax® a été mené avec succès en septembre dernier. Ses résultats ont montré que Foliglurax® était sûr et bien toléré à des doses très supérieures à celles qui produisent des effets secondaires chez des modèles animaux de maladie de Parkinson.

Il s'agit maintenant de concrétiser si possible ces premiers résultats encourageants. Pour ce faire et pour soutenir le développement, Prexton Therapeutics a clôturé avec succès un tour de financement de 29 millions d'euros et soutenir le développement de son candidat-traitement. Ceci permettra à Prexton Therapeutics



de financer deux essais cliniques de phase 2 pour sa molécule-phare, Foliglurax® (anciennement : PXT 002331). Les essais débiteront cette année dans des centres spécialisés en Europe et aux États-Unis.

L'ampleur financière de la levée de fonds témoigne de la confiance des investisseurs du capital-risque quant à l'avenir potentiel du potentiel de Foliglurax®, selon François Conquet, PDG de Prexton Therapeutics : *« Nous avons obtenu des données fiables sur les modèles animaux lors de la phase 1, nous sommes prêts à lancer les essais d'efficacité de phase 2 et à poursuivre le développement de ce nouveau traitement dans la maladie de Parkinson ».*

Les partenaires financiers de ce développement se sont déclarés « *très impressionnés* » par la recherche neurologique de la biopharma autour de Foliglurax®, notamment par le choix de cette voie alternative explorée par Prexton Therapeutics pour traiter cette maladie complexe. Cette

approche originale pourrait faire la différence dans le développement de cette nouvelle option de traitement.

La maladie de Parkinson est un trouble neurologique progressif dévastateur qui touche environ 6,3 millions de personnes dans le monde (un million aux USA, 3 millions en Europe), rappelle Prexton Therapeutics. Son origine est la dégénérescence de neurones dopaminergiques. Les principaux symptômes sont les tremblements au repos, la rigidité musculaire (spasticité) et les mouvements incontrôlés (dyskinésie). Pour cette raison, on lui donnait autrefois l'appellation *paralysie agitante*... Son incidence augmente avec l'avance en âge de la population, comme la maladie d'Alzheimer. 🟡🔴

J.-M. M.

Source: Prexton Therapeutics.
www.prextontherapeutics.com

BRÈVES

Changements climatiques et hypoglycémie

Le niveau de glycémie peut fluctuer en fonction de variations météorologiques, rappelle une étude publiée par une équipe allemande (Mario Hensel et coll., CH Park-Klinik Weissensee, Berlin). Il existerait ainsi une « zone de confort thermique », entre 10 °C et 20 °C en deçà et au-delà de laquelle il y a un risque d'hypoglycémie chez les diabétiques de type 1 et les diabétiques de type 2. Les auteurs allemands estiment que leur observation possède une pertinence clinique même si le mécanisme biologique sous-jacent de ce phénomène est encore inconnu. Les épisodes d'hypoglycémie sévère augmentent de 18 % lors de fortes températures et de 15 % lors de temps froid en se référant à la « zone de confort thermique », selon les données de suivi de plus de 2 500 sujets de la région de Hambourg. Chez des patients précédemment traités pour hypoglycémie sévère, celle-ci survient plus fréquemment hors du domicile, 21 % par haute température, 13 % quand il fait plus froid (contre 8 % à domicile), notent les auteurs.



© Jenny Sturm/Fotolia.com

Source: Diabetes. co. uk

Un traitement oral de l'hémophilie est-il possible ?

C'est la question qui se pose après publication, fin décembre 2016, d'un commu-

niqué de l'Université du Texas à Austin sur le développement en cours d'un traitement oral de l'hémophilie B, pour simplifier celui-ci, exclusivement injectable. Selon les données parues précédemment dans l'*International Journal of Pharmaceutics*, ce travail encore au stade expérimental pourrait déboucher sur une forme du facteur antihémophilique IX encapsulée en gélule, active dans l'intestin grêle après avoir été protégé de la destruction enzymatique dans l'estomac. Le délitement intestinal de la capsule assure à la molécule une libération prolongée. La simplification du traitement n'a pas seulement pour objectif d'éviter aux hémophiles les douloureuses injections, disent ses promoteurs (Sarena Horava et coll.), mais aussi de le simplifier, d'abaisser son coût et de le proposer aux pays dans lesquels la sécurité et le coût des traitements injectables posent encore problème, et dans lesquels l'espérance de vie des hémophiles est réduite par rapport aux patients des pays développés.



© andreaobzerova/Fotolia.com

L'insuline inhalée enfin sur le marché pharmaceutique

Au début de février a été annoncée la mise sur le marché pharmaceutique américain du système d'administration de l'insuline Afrezza® seule forme inhalée d'insuline, a-t-on appris par un communiqué de presse de MannKind Corporation et de Sanofi, qui ont signé un accord de licence mondiale.

Ce qui laisse penser que cette forme d'insuline, la seule sur le marché, pourra être un jour disponible en France.

Afrezza®, un système d'inhalation développé par MannKind à partir d'une insuline humaine de Sanofi, a initialement été approuvée par la FDA pour le traitement des diabètes de type 1 et 2.

Beaucoup de sujets porteurs d'un diabète ne parviennent pas à équilibrer leur glycémie avec les médicaments courants et cette forme d'insuline peut leur être profitable, indique dans ce communiqué l'un des responsables de l'étude clinique d'Afrezza®, le Pr Janet McGill (Ecole de médecine de l'Université de Washington, Saint-Louis). Ils ont une option différente d'administration de l'insuline [par rapport aux injections]. Cette option d'administration pourrait influencer sur le dialogue entre les professionnels de santé et les diabétiques, concernant l'initiation et le renforcement de l'insulinothérapie.

L'insuline Afrezza® est une forme sèche d'insuline humaine dans un petit inhala-

teur portable. Comme l'ont montré les études biocliniques, l'insuline est rapidement absorbée, dotée d'une activité biologique brève, elle doit être administrée au début de chaque repas.

Afrezza® constitue une nouvelle offre importante dans le portefeuille évolutif du diabète de Sanofi désireux d'apporter des solutions thérapeutiques innovantes pour les patients concernés, selon Pierre Chancel, responsable de la Division Diabète de Sanofi. Il existe un besoin pour une insuline qui ne requière pas des injections. Raison pour laquelle Sanofi s'implique pour favoriser la disponibilité de ce nouveau traitement aux patients.

Afrezza® sera indiqué dans un traitement d'ensemble du diabète incluant une adaptation de l'alimentation, la pratique d'activités physiques et d'autres médicaments antidiabétiques. Il ne peut être proposé aux patients ayant une affection respiratoire chronique [telle la BPCO], ni aux fumeurs, ni aux fumeurs ayant arrêté le tabac trop précocement, ce n'est pas un traitement de l'acidocétose diabétique.

Afrezza® est le résultat de plusieurs années de développement de MannKind Corporation, fondée et présidée par Alfred Mann. ■■

J.-M. M.

Lien: www.mannkindcorp.com



© F16-ISO100/Fotolia.com

» Entre cytométrie spécialisée et diagnostic

Beckman Coulter a organisé au sein de son siège à Villepinte une journée HematoFlow. Le but de cet événement était de réunir l'ensemble des utilisateurs de cette technologie exclusivement distribuée par Beckman Coulter qui constitue aujourd'hui un atout majeur en hématologie. Cette journée a réuni une grande partie des utilisateurs de France et de Belgique. Nous avons recueilli le témoignage de Laurence Martin et Joséphine Hornyh du laboratoire Exalab.



Pouvez-vous nous décrire EXALAB et son fonctionnement en hématologie ?

Exalab est un des plus anciens laboratoires de Biologie Médicale de Bordeaux puisqu'il a été créé dans les années 1930. C'est aujourd'hui un laboratoire de biologie multi-sites au service des patients et des professionnels de santé de la Gironde, de la Charente-Maritime et des Landes. Il est détenu et géré par 53 biologistes. Exalab emploie plus de 400 personnes dans tous les métiers de la biologie médicale.

Le traitement des 2250 tubes d'hématologie est réalisé sur 3 sites : le site de Blaye, équipé d'un DxH 800, le site de Bordeaux – clinique Saint Augustin avec deux DxH 800 et un DxH SMS et enfin la majorité des tubes (1800) de la structure est traitée sur le plateau technique Le Haillan utilisant 6 modules analytiques DxH 800, un étaleur colorateur DxH SMS et la solution HematoFlow™, pour toutes les formules demandant une expertise. L'HematoFlow™, combine l'immuno-phénotypage avec une lecture sur un cytofluoromètre dédié sur notre pôle de routine. Le marquage est réalisé par un cocktail prêt à l'emploi de 6 anticorps : le CytoDiff™. Grâce à un multifenêtrage en cascade automatisé, une formule de 16 sous-populations leucocytaires est obtenue.

Pourquoi votre présence à cette journée HematoFlow ?

Nous utilisons l'HematoFlow depuis quelques années, nous étions ravis de rencontrer d'autres utilisateurs afin de partager nos expériences. Mais aussi, nous avons un réel intérêt scientifique pour les différentes présentations qui mettaient notamment en avant de nouvelles avancées.

Quels ont été les thèmes abordés ?

Nous avons débuté la journée par des études de cas sur les blastoses avec Orianne Wagner Ballon du CHU de Créteil. Elle nous a fait partager son expérience avec des interprétations de résultats très concrets que nous avons au quotidien afin d'améliorer nos connaissances. Elle a ensuite évoqué l'approche diagnostique de la LMMC par évaluation de la répartition des sous-populations monocytaires issue de la cytométrie classique pour l'adapter à l'HematoFlow. Nous avons découvert l'utilité et la pertinence d'une telle application que nous pourrions utiliser dans notre laboratoire.

Agnès Girard et Sophie Rocher du Laboratoire des Cèdres à Cornebarrieu, ont ensuite présenté leur approche pour accréditer l'HematoFlow. Après l'accréditation initiale et l'audit de suivi, leur expérience sur le sujet nous a apporté la certitude que nous pourrions nous aussi accréditer prochainement la totalité de notre paillasse hématologie.



Après une pause déjeuner, où nous avons échangé avec les autres utilisateurs mais aussi les représentants de Beckman Coulter, Francis Lacombe du CHU de Bordeaux nous a fait part d'un système d'alarme permettant une validation automatique de l'HematoFlow. En appliquant cette stratégie éprouvée dans son laboratoire, nous pourrions augmenter de façon considérable la validation automatique en toute sécurité, avec pour objectif final de gagner du temps tout en augmentant la qualité analytique.

L'intervention de Mikael Roussel du CHU de Rennes, portait sur l'intégration des granulocytes quantifiés par le DxH dans la stratégie HematoFlow. Il nous a démontré de façon objective, la pertinence d'associer 2 technologies différentes de quantification de la myélémie, et présenté son implémentation au sein de son laboratoire. Son approche reflète celle que nous avons en partie intégrée au laboratoire.

La journée s'est terminée par la présentation de Marc Vasse de Hôpital Foch à Suresnes sur son travail relatif à la combinaison de l'analyse des données positionnelles cellulaires (DPC) du DxH et du CytoDiff pour le diagnostic des lymphocytoses. Il a démontré que l'analyse des DPC peut constituer une aide pour distinguer les lymphocytoses réactionnelles des lymphocytoses monoclonales, ainsi que la complémentarité entre les systèmes Dxh800 et HematoFlow dans les lymphopathies.

Quelle serait votre conclusion de la journée ?

Nous savons que l'HematoFlow dans notre laboratoire contribue clairement à notre expertise en hématologie. Cette expertise répond à la demande de nos prescripteurs mais parfois va au-delà de la pratique clinique actuelle en apportant des informations diagnostiques non demandées pour une numération formule standard. Au cours de cette journée, nous avons constaté que l'HematoFlow, bien qu'étant une technologie avancée pour le diagnostic, peut encore voir son potentiel croître, et apporter plus qu'elle ne le fait déjà.

Laurence Martin, Biologiste
Joséphine Hornyh, Biologiste



Beckman Coulter

22 Av des Nations · 93420 Villepinte
Tel : 01.49.90.90.00
marketingfrance@beckmancoulter.com
www.beckmancoulter.com



» Move healthcare forward.

BRÈVES

Grippe 2017-2018 : la formule du vaccin

Le bulletin *Eurosurveillance* de l'European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC, Stockholm) a publié le 9 mars

les recommandations de l'OMS sur la composition du vaccin grippal 2017-2018 pour l'hémisphère nord. Pour le vaccin trivalent, la formule comporte un virus A/Michigan/45/2015 (H1N1)pdm09, un virus A/Hong Kong/4801/2014 (H3N2) et un virus B/Brisbane/60/2008. Le vaccin quadrivalent doit contenir la formule précédente plus un virus B/Phuket/3073/2013. C'est aux autorités de santé de chaque pays, rappelle l'ECDC, d'approuver la composition des vaccins, et de diffuser les informations sur le bon usage du vaccin. L'OMS organise des consultations avec les experts de son groupe consultatif dans l'année pour analyser les données de la surveillance mondiale de la grippe du système mondial de surveillance et de réponse de la grippe (*Global Influenza Surveillance and Response System/GISRS*), ce qui permet de déterminer la composition du vaccin pour la saison à venir selon les virus circulant majoritairement.

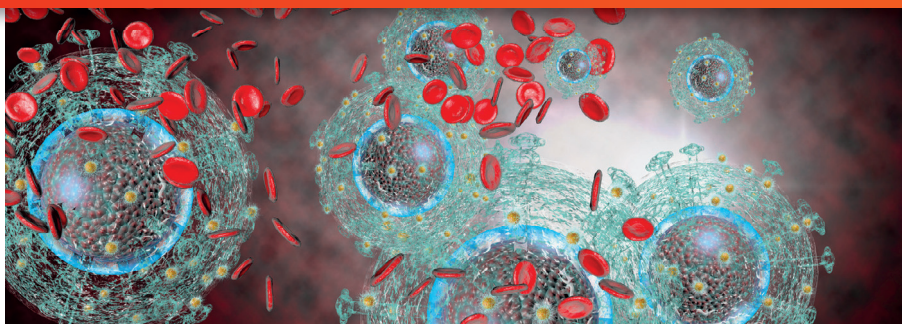
Source : http://www.who.int/influenza/vaccines/virus/recommendations/201703_recommendation.pdf?ua=1.

Allergie à la cacahuète : prévention d'abord

L'allergie à la cacahuète (*peanut*) n'a pas en France l'ampleur qu'elle a aux USA, où son usage est abondant, les premiers touchés étant les enfants et les ados, certains exposés à un risque léthal ! Travaillant sur le sujet depuis près de 10 ans avec nombre

de groupes de consommateurs et d'associations, le *National Institute of Allergy and Infectious Diseases* (NIAID), un institut spécialisé des NIH, a publié les premières recommandations pour le diagnostic et la gestion de l'allergie alimentaire. Des données cliniques récentes suggèrent que l'allergie à la cacahuète peut être prévenue par l'introduction dès l'enfance de la cacahuète [tel le beurre de cacahuète, surconsommé]. Les recommandations comportent des clauses spéciales pour l'enfance à l'intention de professionnels de santé (médecins, pharmaciens, infirmiers) : catégories de risques, examens biologiques (IgE), tests cutanés, épreuves orales... Au total, des *guidelines* en vue d'une introduction des produits de cacahuète dans l'alimentation d'enfants possédant divers niveaux de risque.

Source: *J Allergy Clin Immunol*. 2017 Jan;139(1):29-44. doi: 10.1016/j.jaci.2016.10.010.



Cellules-réservoirs du VIH : la protéine qui le trahit

Une équipe composite française (CNRS, INSERM, Université et CHU de Montpellier/Hôpital Gui de Chauliac, Hôpital Henri-Mondor/AP-HP, Institut Pasteur, Institut de recherche vaccinale/IRI) a identifié un marqueur permettant de différencier les cellules saines des cellules infectées chroniquement par le VIH, réservoirs viraux quasi inexpugnables.

Selon un communiqué commun, cette avancée permettra d'analyser ces *cellules-réservoirs silencieuses* responsables de la rémanence du virus même chez des sujets sous antirétroviraux (ART) avec même une charge virale indétectable.

Ce travail s'inscrit dans le programme-clé de l'ANRS *Réservoirs du VIH*. Il est décrit dans un article de *Nature* du 15 mars. Un brevet CNRS a été déposé à titre diagnostique/thérapeutique du marqueur identifié. Depuis plus de 20 ans et la mise à disposition des premières trithérapies, on envisage que la guérison de l'infection à VIH doit cibler les cellules-refuges du virus chez les patients stabilisés par le traitement mais porteurs du virus quiescent... qui peut s'y dissimuler pendant des dizaines d'années, repoussé par les ART, échappant au système immunitaire, *sans qu'aucune protéine virale ne soit exprimée*, disent les auteurs. À l'arrêt du traitement, le virus reprend une réplication massive, l'infection progresse, d'où nécessité du *traitement à vie*. Pour envisager d'éliminer le *virus dormant*, il est impératif de distinguer les cellules-refuges du VIH des *cellules homologues saines très semblables*. C'est la réussite de cette équipe : identifier un marqueur des cellules-réservoirs, une protéine présente uniquement en surface des cellules infectées.

Partant de l'hypothèse que le VIH pourrait laisser une *empreinte* en surface de sa cellule-hôte (involontaire), les chercheurs de l'Institut de génétique humaine (CNRS/Université de Montpellier) ont tout d'abord étudié un modèle d'infection développée *in vitro*. Une comparaison entre cellules infectées et des T CD4 sains a permis d'identifier une protéine particulière, que code un gène parmi tous ceux qu'expriment

les cellules infectées. Rappel : l'infection à VIH réduit progressivement le nombre des lymphocytes T CD4, leur numération est un marqueur biologique lors du suivi de la séropositivité et de l'activité du traitement. Seulement présente sur les cellules infectées, la *protéine CD32a* réunissait les critères d'un marqueur de cellules-réservoirs. À partir d'échantillons de sang de 12 sujets VIH-positifs sous ART (suivis par le Service d'immunologie clinique et maladies infectieuses de l'Hôpital Henri-Mondor et le Département de maladies infectieuses et tropicales de l'Hôpital Gui de Chauliac) ont été isolées les cellules exprimant le marqueur : on a constaté qu'elles étaient quasiment toutes porteuses du VIH.

Leur activation *in vitro* a induit la production de virus susceptibles d'infecter des cellules saines tandis que leur élimination a freiné de façon importante la réplication virale. Cette découverte ouvre la voie à une meilleure connaissance des réservoirs cellulaires du virus de l'immunodéficience humaine, qui pourront être plus facilement isolés et directement analysés. À plus long terme, espèrent les chercheurs français, elle devrait aider à définir une stratégie thérapeutique visant directement à expurger le virus de ses refuges cellulaires. ■■

J.-M. M

Source: CNRS/INSERM. Lien: *CD32a is a marker of CD4 T cell HIV reservoir harboring replication-competent provirus*, Benjamin Descours, Gaël Petitjean, José-Luis López-Zaragoza, Timothée Bruel, Raoul Raffel, Christina Psomas, Jacques Reynes, Christine Lacabaratz, Yves Levy, Olivier Schwartz, Jean Daniel Lelievre, Moncef Benkirane. *Nature*, 15 mars 2017. DOI: 10.1038/nature21710

LIVRES

Tuer le cancer

« Pendant des années, au chevet de ses patients comme dans le secret de son laboratoire (sic), le Pr Patrizia Paterlini-Bréchet s'est employé à décoder les stratégies de camouflage du cancer, ce tueur en série. Elle a passé des jours et des nuits à mettre au point des méthodes expérimentales pour prendre en filature les cellules tumorales qui circulent dans le sang bien avant que la maladie ne se signale ». Tel est le lyrisme de l'éditeur pour évoquer la personnalité de cette scientifique, au sein d'une équipe motivée qu'elle anime, « elle a trouvé : une simple prise de sang permet aujourd'hui de détecter, en amont, les prémisses d'un cancer ».

Ici Patrizia Paterlini-Bréchet évoque le parcours scientifique ayant abouti à sa découverte, le test ISET : **Isolation by Size of Tumor Trophoblastic Cells**, et évoque les grandes avancées scientifiques qui ont permis le développement des moyens thérapeutiques et biologiques de la lutte contre le cancer c'est donc bien sur le diagnostic précoce que doivent porter les efforts en biologie oncologique. « Un livre de combat et d'espoir porté par une femme exceptionnelle », conclut l'éditeur...

En introduction, notre scientifique évoque la genèse d'ISET : « Octobre 2014. Après presque vingt années d'efforts de la part de toute l'équipe de recherche que je dirige, j'apprends que nous avons gagné une bataille décisive. Le test sanguin que nous avons mis au point et qui consiste à filtrer le sang pour y trouver d'éventuelles cellules cancéreuses circulantes (CCC), dites « sentinelles », lesquelles signalent la présence du tueur qui rôde dans le corps humain avant même qu'il ait commis l'irréparable, ce test, donc, a fonctionné ».

C'est un aboutissement que RFL a rapporté en son temps : « Les équipes du Pr Paul Hofman, pathologiste à l'Institut de recherche sur le cancer et le vieillissement (Ircan) à Nice, et du Pr Charles-Hugo Marquette, pneumologue au CHU de Nice, ont réussi à diagnostiquer parmi 245 sujets, dont une majorité de gros fumeurs atteints de broncho-



pathie obstructive [BPCO], ceux qui allaient développer une tumeur, plusieurs années avant que le cancer du poumon ne soit visible sur une radiographie ou un scanner ».

Conclusion (provisoire) : « Le test ISET permet d'intervenir très en amont, alors que 75 % des cancers du poumon ne peuvent plus être opérés quand ils sont détectés, parce qu'ils en sont à un stade trop avancé et ont déjà produit des métastases. **C'est une première mondiale.** La machine que j'ai conçue avec mon équipe, et qui ressemble à une banale photocopieuse, peut donc sauver des vies ! Aujourd'hui expérimentale, la tâche d'isolement qu'elle accomplit, associée à l'analyse experte des cellules au microscope, pourra demain être proposée aussi couramment, et pour un coût aussi modique, qu'une simple numération sanguine ».

ISET, pas plus chère qu'une NFS ! ■■

Patrizia Paterlini-Bréchet. 250 p. Collection Essais/Documents. Éditions Stock
www.editions-stock.fr
 Version anglaise disponible.

AGENDA

avril-juin 2017

Paris Healthcare Week
HôpitalExpo-GerontHandicap-HIT-SalonInfirmier-Intermeditech

16-18 mai 2017

Paris/Porte de Versailles

www.pgpromotion.fr

International conference on prevention & infection control/ICPIC

20-23 juin 2017

Genève

www.ICPIC.com

Symposium WIN 2017
Innovation mondiale en oncologie

26-27 juin 2017

Paris

www.winconsortium.org

IAS 2017 Conference on HIV science

23-26 juillet 2017

Paris

www.IAS2017.org

COPD & Lung cancer/BPCO
et cancer du poumon

28-29 juillet 2017

Perth (Australie)

www.thelancetsummit.com

European Bone & Joint Infection society/EBJIS

7-9 septembre 2017

Nantes

www.infectiologie.com/fr/ebjis

Congrès international d'endocrinologie pédiatrique

14-17 septembre 2017

Washington

<http://internationalmeeting2017.org>

Colloque du SNBH

27-29 septembre 2017

Bordeaux

www.snbh.asso.fr

Microbiome and gut permeability
A new paradigm for personalized medicine

19-20 octobre 2017

Paris

Académie de médecine : Nicole Priollaud

06 09 48 50 38 - nicole.priollaud@wanadoo.fr

APRC M. Claude Vincent 06 13 72 33 69-

aprcorg@aol.com

Une offensive contre les cellules-souches cancéreuses pour maîtriser la récurrence ?

La revue *Cell Reports* vient de publier un article important, d'une équipe composite française réunissant des chercheurs de l'INSERM, du CNRS et du Centre anticancéreux Paoli-Calmettes, (Christophe Ginestier, Emmanuelle Charafe-Jauffret et coll.) qui apportent un éclairage nouveau en oncologie. C'est ce que résume le titre de cet article : ***miR-600 Acts as a Bimodal Switch that Regulates Breast Cancer Stem Cell Fate through WNT Signaling***.

Ces chercheurs ont véritablement identifié un « interrupteur bimodal » (*switch*) moléculaire qui contrôle les cellules-souches cancéreuses (*cancerous stem cells* : CSC), le modèle étant ici le cancer du sein, une molécule d'ARN exerce la fonction d'interrupteur moléculaire capable de désactiver (éteindre : *switch off*) ou d'activer (allumer : *switch on*) le mécanisme de la prolifération des CSC dans les cancers du sein. Les cellules-souches du cancer du sein (*breast cancer stem cells* : bCSCs) ont été impliquées dans la progression de la tumeur et la résistance au traitement. Cependant le mécanisme moléculaire qui détermine cet état n'était pas clair, rappellent les chercheurs français. En clinique, on constate que certaines cellules cancéreuses sont résistantes au traitement et survivent.

Si elles ont conservé leur capacité de prolifération, même si elles ne sont qu'en très petit nombre, leur statut de cellules-souches peut suffire à reconstituer la tumeur après un premier traitement. Pour espérer éliminer ces CSC, différentes stratégies ont été testées dernières années : thérapies ciblées, vaccination, antiangiogéniques tumoraux.

Les données actuelles issues des connaissances de ces dernières années ont montré l'existence dans la composition d'une tumeur, d'une population de cellules aux propriétés différentes : une tumeur possède une hétérogénéité cellulaire, soulignent les auteurs. En effet, un faible nombre des cellules qui composent une tumeur ont la capacité, quand elles sont isolées puis transférées sur des modèles animaux, de former une tumeur identique à la tumeur d'origine.

Ainsi les cellules-souches de la tumeur ont

une capacité proliférer et à se répliquer mais aussi à se différencier (comme toutes les cellules-souches) et ainsi à donner naissance à des populations cellulaires tumorales hétérogènes (différentes), voire à entrer *en dormance* pour une durée variable - ce qui expliquerait leur échappement aux molécules thérapeutiques qui ciblent majoritairement des cellules en cours de division.

On peut envisager d'éradiquer une tumeur

L'interrupteur de l'agressivité tumorale est une cible thérapeutique, la résistance au traitement et la rechute pourraient être dues à des thérapies ne ciblant pas les bonnes cellules cancéreuses.

et stopper son mécanisme de prolifération pour empêcher sa résurgence à une condition : neutraliser les CSC. Le développement de toute nouvelle stratégie thérapeutique dépendant d'une meilleure compréhension des mécanismes moléculaires intrinsèques des CSC, disent-ils, ils se sont intéressés aux microARN (miARN), précédemment décrits comme des régulateurs susceptibles d'orienter le destin cellulaire des cellules-souches, y compris au cours de l'embryogenèse. Ils pourraient représenter des acteurs majeurs de la biologie des CSC.

Rappel : les miARN sont de petits ARN qui n'ont pas la fonction d'ARN messagers (mARN) dans la production d'une protéine à partir de l'information codée par l'ADN mais régulent l'activité d'autres ARN ou de protéines.

L'équipe française a procédé ainsi au criblage de l'ensemble des miARN du génome pour identifier les miARN d'intérêt. Les bCSC ont été impliquées dans la progression tumorale et la résistance aux

thérapeutiques avec la complicité des miARN, le criblage (*screening*) permettant un choix entre les ARN impliqués dans le gain et la perte de fonction (*gain- and loss-of-function*) pour identifier et choisir entre les ARN orientant les bCSC vers l'auto-renouvellement ou la différenciation cellulaires (*self-renewal and differentiation*). Les auteurs ont pu observer que l'inactivation d'un miARN : miR-600, déclenche une augmentation des CSC, alors que sa surexpression réduit la tumorigénicité. Ils ont montré que miR-600 agit *via* son influence sur une enzyme (*stearoyl desaturase 1* : SCD1), impliquée dans la production de la protéine WNT active, connue pour son rôle dans la voie de signalisation impliquée dans l'embryogenèse.

Constat : quand on inactive miR-600, on observe une expansion des CSC (mauvais pronostic du cancer). À l'inverse, en augmentant la production de miR-600, la différenciation des CSC est favorisée aux dépens de leur prolifération : la progression tumorale est stoppée.

Conclusion (provisoire) des auteurs français : « Si miR-600 est un interrupteur de l'agressivité tumorale, il peut donc constituer une bonne cible thérapeutique, nos données tendent aussi à prouver que la résistance au traitement et que la rechute après traitement pourraient être dues au fait que les thérapies utilisées ne ciblent pas les bonnes cellules cancéreuses ». ■■

Source "miR-600 acts as a bimodal switch that regulates breast cancer stem cell fate through WNT signaling" El Helou R, Pinn G, Cabaud O, Wicinski J, Bhajun R, Laurent Guyon L, Rioualen C, Finetti O, Gros A, Mari B, Barbry P, Francois Bertucci F, Bidaut G, Harel-Bellan A, Daniel Birnbaum D, Charafe-Jauffret E, Christophe Ginestier. *Cell Reports*, 2017, <http://dx.doi.org/10.1016/j.celrep.2017.02.016>.

La transplantation d'îlots restaure le contrôle de la glycémie dans le diabète de type 1

L'une des stratégies proposées pour traiter le diabète de type 1 est le remplacement des cellules bêta pancréatiques (regroupées en îlots de Langerhans), transplantation à partir de donneurs décédés. Une équipe internationale de spécialistes, le Consortium clinique de transplantation d'îlots (Clinical Islet Transplantation Consortium), soutenu par les National Institutes of Health (NIH) a été organisé pour évaluer l'efficacité et la sécurité de cette procédure encore expérimentale.

L'étude a été conçue en tenant compte des recommandations de la *Food and Drug Administration* (FDA) – le gendarme de la sécurité thérapeutique aux USA mais dont les avis font autorité internationale – de façon que les éléments apportés par cette étude servent de base à un protocole portant sur les îlots pancréatiques humains purifiés.

L'équipe d'expérimentateurs a enrôlé 48 sujets porteurs d'un diabète de type 1 depuis plus de cinq ans, supportant mal leurs accès d'hypoglycémie en dépit d'un traitement bien adapté. Les participants ont reçu au moins un transplant d'îlots et ont reçu parallèlement un traitement immunosuppresseur pour éviter le rejet du transplant. Cette étude est soutenue par certaines des agences sanitaires spécialisées des NIH : *National Institute of Allergy and Infectious Diseases* (NIAID), *National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases* (NIDDK), et d'autres.

De premiers résultats ont été publiés dans une édition de *Diabetes Care* (l'une des revues spécialisées de l'Association américaine du diabète/ADA) d'avril 2016.

Durant la première année après la transplantation initiale, chez 88 % des participants de l'étude les épisodes sévères d'hypoglycémie avaient disparu. La maîtrise de leur glycémie était quasi-normale. Ils avaient retrouvé les signes avant-coureurs d'un épisode hypoglycémique, tandis qu'au bout de deux ans,

71 % des sujets de l'étude réunissaient encore ces critères positifs.

Les effets indésirables signalés comportaient des saignements en rapport avec la procédure de transplantation ou une infection, une réduction de la fonction rénale en rapport avec la thérapeutique immunosuppressive. Certains de ces

Il s'agit d'une procédure encore expérimentale, dont les risques doivent être pesés soigneusement, mais les perspectives de la transplantation d'îlots sont indéniablement prometteuses et encourageantes.

effets étaient sévères, mais aucun n'a entraîné le décès ou un handicap, rassurent les auteurs.

Alors que c'est une procédure encore expérimentale, dont les risques doivent être pesés soigneusement, les perspectives de la transplantation d'îlots sont indéniablement prometteuses et encourageantes, estime le directeur du NIDDK, le Dr Griffin P. Rodgers. Les patients sont toujours sous surveillance de façon à évaluer les bénéfices et les risques de la transplantation thérapeutique.

En résumé on peut conclure que la transplantation d'îlots traite avec succès les cas difficiles de diabète de type 1, que la procédure de transplantation et le recours aux immunosuppresseurs sont associés à quelques effets secondaires et que les spécialistes de cette expérience continuent de suivre les patients en vue de définir un protocole « propriétaire » de transplantation d'îlots

D'autres tentatives

Le *Clinical Islet Transplantation Consortium* (CIT, www.citisletstudy.org/what.html) est un réseau de centres cliniques et de recueil de données créé en 2004 pour mener des études sur la transplantation d'îlots chez des patients ayant un diabète de type 1. Il réunit actuellement huit centres médicaux américains, un centre norvégien, deux centres suédois et un centre canadien de référence mondiale à Edmonton. Il se concentre sur deux objectifs : améliorer la sécurité et la réussite à long terme de la technique de transplantation d'îlots, mieux connaître les cellules insulino-gènes pancréatiques, chez les sujets dont les cellules bêta ont été invalidées par le processus auto-immun du diabète de type 1.

Une autre approche est le développement de cellules bêta fonctionnelles à partir de cellules-souches pluripotentes. Une équipe de l'Université Harvard (Dr Douglas Melton et coll.) a publié dans *Cell* (9/10/2014) les premières tentatives encourageantes mais difficiles (<https://www.nih.gov/news-events/nih-research-matters/developing-insulin-producing-cells-treat-diabetes>).

Troisième option possible : pour éviter la réaction immunitaire suite à la transplantation, une équipe du Massachusetts Institute of Technology (Dr Daniel G. Anderson et coll.) a proposé d'encapsuler les cellules bêta, obtenues à partir de cellules-souches embryonnaires. Ce travail, soutenu également par les instituts des NIH, a été décrit dans *Nature Medicine and Nature Biotechnology* (online, 25/1/2016). Les cellules bêta ont répondu à la glycémie et produit de l'insuline sur la souris (www.nih.gov/news-events/nih-research-matters/encapsulated-cells-treat-diabetes-mice). ■■

Phase 3 trial of transplantation of human islets in type 1 diabetes complicated by severe hypoglycemia. BJ Hering et al. Diabetes Care. April 18, 2016. DOI: 10.2337/dc15-1988.

Hématologie

Marc Maynadié ^{a,b,c,*}



© PEGGY GREB/SPL/PHANIE

AVANT-PROPOS

Ce numéro de la RFL accompagne, comme c'est devenu traditionnel maintenant, la nouvelle grande réunion annuelle du Groupe Français d'Hématologie Cellulaire. Le thème en est les syndromes myéloprolifératifs chroniques, au sens large, un thème en pleine évolution ! Même si ces questions ont parfois déjà fait l'objet d'articles dans cette publication, il y a des changements parfois importants qu'il nous a paru indispensable d'évoquer à cette occasion. C'est ainsi que les données épidémiologiques de ces pathologies sur base de population sont actualisées et que les changements de la classification OMS 2016 sont présentés. Ils vont influencer notablement notre pratique en introduisant de façon plus impérative la pratique de la biopsie osseuse. La constitution du GEBOM est aussi un élément majeur qui vient à point nommé pour mettre l'histopathologie médullaire à sa juste place et Barbara Burroni nous fait le point de ce qui est vu dans une moelle osseuse

a Service d'Hématologie Biologique
Pôle de Biologie/Pathologie
CHU de Dijon
2 rue Angélique Ducoudray - 21079 Dijon cedex.
b Registre des Hémopathies Malignes de Côte d'Or
Faculté des Sciences de Santé
7 Boulevard Jeanne d'Arc - 21070 DIJON cedex
c INSERM U1231

* Correspondance

* marc.maynadié@chu-dijon.fr
marc.maynadié@u-bourgogne.fr

© 2017 – Elsevier Masson SAS
Tous droits réservés.

de néoplasie myéloproliférative. Le point est aussi fait sur la physiopathologie de ces NPM avec le rôle essentiel de la niche hématopoïétique et du microenvironnement mais aussi de CALR muté dans la cascade d'événements moléculaires qui aboutissent à la maladie. La prise en charge thérapeutique est enfin évoquée par L. Roy avec une évaluation des molécules de thérapie ciblée.

La LMC qui est le NPM que nous connaissons le mieux mais pour lequel des nouveaux éléments biologiques sont encore décryptés comme le rappelle Jean-Claude Chomel, n'est pas oubliée.

Merci à tous ceux qui ont contribué à ce dossier hématologique que j'espère vous aurez plaisir à lire, à faire lire à nos plus jeunes collègues et à utiliser pour votre pratique quotidienne. Merci de votre fidélité et bon congrès à tous.

La coordination de ce dossier a été assurée par le Pr Marc Maynadié, Pôle de Biologie/Pathologie – CHU de Dijon.

Sommaire thématique

- Révision de la classification des syndromes myéloprolifératifs selon l'OMS en 2016..... **p. 25**
- Épidémiologie des syndromes myéloprolifératifs chroniques..... **p. 29**
- Biologie moléculaire de la leucémie myéloïde chronique : dernières avancées..... **p. 33**
- Physiopathologie des néoplasies myéloprolifératives ; quand le microenvironnement s'enflamme !..... **p. 41**
- Physiopathologie des syndromes myéloprolifératifs non LMC : quel rôle pour CALR muté ?..... **p. 51**
- Diagnostic anatomopathologique des néoplasies myéloprolifératives chroniques Ph-..... **p. 54**
- Actualités thérapeutiques dans les néoplasies myéloprolifératives non LMC..... **p. 59**
- QCM **p. 63**

Révision de la classification des syndromes myéloprolifératifs selon l'OMS en 2016

Marc Maynadié^{a, b, c, *}

RÉSUMÉ

L'évolution des classifications des pathologies hématologiques est maintenant régulière depuis la première version de la classification établie sous l'égide de l'OMS. Les éléments de la 3^e version viennent d'être publiés dans diverses revues internationales. Les syndromes myéloprolifératifs (SMP) n'ont pas échappé à cette révision et outre quelques modifications des différents critères diagnostiques, l'élément le plus marquant est certainement l'introduction d'une nouvelle entité, la Myélofibrose Primitive en phase précoce ou préfibrotique, intermédiaire entre la Thrombocythémie Essentielle et la Myélofibrose Primitive avérée. Cela implique la pratique systématique d'une biopsie médullaire devant toute suspicion de SMP, ce qui devrait modifier un tant soit peu les pratiques.

Classification - syndromes myéloprolifératifs.

1. Introduction

Avant 1994 et plus particulièrement avant 2000, plusieurs classifications des hémopathies étaient proposées par différents auteurs, possédant tous de très grandes compétences mais souvent orientées selon la spécialité de chacun (clinique, biologie ou pathologie...). Il n'y avait pas de consensus général et parfois les différences de critères utilisés étaient problématiques. La publication REAL en 1994 a heureusement initié la culture du consensus dans ce domaine et a été à l'origine des travaux conduits sous l'égide de l'organisation mondiale de la santé pour établir une classification prenant en compte toutes les connaissances scientifiques [1]. Cette classification a été révisée régulièrement depuis avec une version en 2008 puis en 2016 (WHO 2008, 2016) [2,3]. Ce sont les changements apportés dans la classification des syndromes myéloprolifératifs (SMP) ou néoplasies myéloprolifératives (NMP) selon leur nouvelle dénomination, qui seront revus dans cet article [4].

a Service d'Hématologie Biologique

Pôle de Biologie/Pathologie

CHU de Dijon

2 rue Angélique Ducoudray - 21079 Dijon cedex.

b Registre des Hémopathies Malignes de Côte d'Or

Faculté des Sciences de Santé

7 Boulevard Jeanne d'Arc - 21070 DIJON cedex

c INSERM U1231

* Correspondance

marc.maynadié@chu-dijon.fr

marc.maynadié@u-bourgogne.fr

SUMMARY

The new international classification of myeloproliferative neoplasms

Summary: Since the first publication of the international classification of hematological malignancies by the WHO in 2000, regular update were published, the latest being in 2016. Myeloproliferative neoplasms (MPN) were of course impacted by this 3rd version. Apart from some expected changes among major or minor criteria in the diagnosis of MPN, the main evolution was the individualization of a new "entity" called "Pre Myelofibrosis". In the spectrum of MPN, this stage was between Essential Thrombocythemia and Primitive Myelofibrosis. This implies that a bone marrow biopsy has to be performed in all suspected MPN patients and this will introduce significant changes in our clinical practice.

Classification - chronic myeloid neoplasms.

Ces syndromes sont connus depuis de très nombreuses années avec cependant des degrés divers. La Leucémie Myéloïde Chronique (LMC) a été la première affection dans laquelle une anomalie cytogénétique, le chromosome Philadelphie, correspondant à une translocation équilibrée, la t(9 ;22) a été décrite permettant de mettre en évidence l'anomalie moléculaire à l'origine de la prolifération à savoir la juxtaposition des gènes *BCR* et *ABL1* [5,6] 1985). Cette anomalie est tellement caractéristique que les autres syndromes myéloprolifératifs sont aussi définis par son absence. Dans ces SMP Ph1 négatif d'autres anomalies géniques ont été plus récemment décrites en particulier la mutation V617F du gène *JAK2* en 2005 puis celle de l'exon 12 de ce même gène, celle du gène *MPL* et enfin celle de la *CALR* [7-9].

2. La Leucémie Myéloïde Chronique, BCR-ABL1 positive

Il n'y a pas de changement majeur dans les critères diagnostiques de la LMC en phase chronique en 2016. Les seules nouveautés sont liées au diagnostic de la phase accélérée de la maladie.

Le diagnostic initial repose sur la mise en évidence de la t(9 ;22) (q34;q11.2) dans les cellules sanguines et/ou médullaires, translocation responsable de la fusion des gènes *BCR-ABL1*. Cette anomalie doit être systématiquement recherchée devant une hyperleucocytose persistante, sans étiologie retrouvée, avec myélémie, mais aussi devant toute

article reçu le 25 janvier 2017, accepté le 17 février 2017.

© 2017 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

Tableau I – Critères diagnostiques de la phase accélérée de LMC, BCR-ABL1 +

Critères hématologiques/cytogénétiques	Critères provisoires de réponse au traitement par ITK
Persistance ou augmentation des leucocytes (> 10x10 ⁹ /L), ne répondant pas au traitement	Absence de réponse hématologique complète au premier ITK utilisé,
Persistante ou augmentation de la splénomégalie, ne répondant pas au traitement	
Thrombocytose persistante (> 1000x10 ⁹ /L), ne répondant pas au traitement	ou
Thrombopénie persistante (< 100x10 ⁹ /L) non liée au traitement	Tout signe hématologique, cytogénétique ou moléculaire de résistance à l'administration de deux ITK successifs,
Présence de 20 % ou plus de basophiles dans le sang	
10 à 19 % de blastes dans le sang ou la moelle osseuse (<10% si blastes lymphoïdes)	ou
Anomalie chromosomique clonale additionnelle dans les cellules PH1+ au diagnostic (autre Ph1, +8, iso17q, +19, caryotype complexe, anomalie en 3q26.2)	Survenue de deux ou plus mutations supplémentaires dans le BCR-ABL1 pendant le traitement pat ITK
Toute autre anomalie chromosomique clonale dans les cellules Ph1+ survenant au cours du traitement	
La LMC est en phase accélérée quand au moins un de ces critères est présent.	
Source: Arber 2016	

augmentation des autres lignées sanguines, en particulier quand il y a une splénomégalie. L'examen de la moelle osseuse reste indispensable pour déterminer le stade de la maladie. La quantification du transcrit BCR-ABL1 est un élément capital de la prise en charge thérapeutique de ces patients puisque c'est le critère majeur du suivi biologique à l'ère du traitement par les inhibiteurs de tyrosine-kinase (ITK) dont le chef de file est l'Imatinib depuis les années 2000 [10,11].

L'évolution de la maladie se fait classiquement vers une phase accélérée puis une phase blastique. Le traitement par ITK a bouleversé heureusement cette évolution avec une quasi disparition de ces situations. Cependant certains patients échappent au traitement et subissent cette évolution péjorative. Les critères de diagnostic de la phase accélérée ont été revus (**tableau I**). Outre les critères cliniques, morphologiques et cytogénétiques, des critères provisoires de réponse au traitement par les ITK sont proposés dans cette définition. Leur validation sera effective dans le futur quand davantage d'informations concordantes seront disponibles. Le diagnostic de la phase blastique reste inchangé avec l'apparition d'au moins 20 % de cellules blastiques dans le sang ou la moelle, ou éventuellement d'une localisation blastique extra hématopoïétique. On se souviendra que cette prolifération blastique peut être myéloïde ou lymphoïde voire biphénotypique ce qui impose une identification précise des blastes par des analyses en cytométrie en flux.

3. Les syndromes myéloprolifératifs Ph1 négatif

La classification de 2016 insiste sur la nécessité de pratiquer une biopsie osseuse dans toute suspicion syndrome myéloprolifératif Ph1 négatif pour éviter de passer à côté du diagnostic, mais surtout pour quantifier la fibrose médullaire. Des critères de quantification de la fibrose réticulinique sont ainsi proposés aux pathologistes. D'autres critères plus spécifiques de chaque entité sont tout aussi importants et nécessaires [4].

3.1. La polyglobulie vraie

Pour la polyglobulie de Vaquez (PV), des changements de critères ont donc été introduits avec le passage de critère mineur à majeur de la biopsie médullaire et la suppression de l'étude de la pousse spontanée des précurseurs érythroblastiques. Le diagnostic de PV qui requerrait la présence de deux critères majeurs et un critère mineur ou du premier critère majeur avec deux critères mineurs requiert maintenant la présence des trois critères majeurs ou des deux premiers critères majeurs et du seul critère mineur restant (**tableau II**). Un bémol a été introduit qui précise que la biopsie ostéo médullaire n'est pas obligatoire quand l'hémoglobine est $> 18,5/g/dL$ (hématocrite $> 55\%$) chez l'homme et $> 16,5 g/dL$ (hématocrite $> 49,5\%$) chez la femme et que le critère majeur 3 et le critère mineur sont présents. Il est toutefois rappelé que la biopsie médullaire est la seule capable de mettre en évidence une myélofibrose initiale, indicatrice d'une évolutivité plus importante de la maladie.

Tableau II – Critères diagnostiques de la polyglobulie Vraie

Critères majeurs
1. Hb $> 16,5 g/dL$ chez l'homme, $> 16 g/dL$ chez la femme ou Ht $> 49\%$ chez l'homme, $> 48\%$ chez la femme ou augmentation de la masse sanguine totale ($> 25\%$ de la valeur théorique)
2. Biopsie médullaire : hypercellularité touchant les trois lignées (panmyélose) avec prolifération mégacaryocytaire pléomorphe
3. Présence de la mutation JAK2V617F ou de JAK2 exon 12
Critère mineur
Taux sanguin d'EPO subnormal
Le diagnostic de PV requiert les trois critères majeurs ou les deux premiers critères majeurs et le critère mineur La biopsie ostéo médullaire n'est pas obligatoire quand l'hémoglobine est $> 18,5/g/dL$ (Hématocrite $> 55\%$) chez l'homme et $> 16,5 g/dL$ (hématocrite $> 49,5\%$) chez la femme et que le critère majeur 3 et le critère mineur sont présents.
Source : Arber 2016

Tableau III – Critères diagnostiques de la Myélofibrose Primitive avérée

Critères majeurs
1. Prolifération mégacaryocytaire avec atypies, avec fibrose réticulinique et/ou de collagène de grade 2 ou 3
2. Absence des critères diagnostiques de LMC <i>BCR-ABL1+</i> ; PV, TE, syndrome myélodysplasique ou autre néoplasie myéloïde
3. Présence de mutation de <i>JAK2</i> , <i>CALR</i> ou <i>MPL</i> ou, en l'absence de ces mutations, présence d'un autre marqueur de clonalité (<i>ASXL1</i> , <i>EZH2</i> , <i>TET2</i> , <i>IDH1/IDH2</i> , <i>SRSF2</i> , <i>SF3B1</i>), ou absence de fibrose réticulinique réactionnelle*
Critères mineurs
1. Anémie non liée à une comorbidité
2. Hyperleucocytose > 11 x 10 ⁹ /L
3. Splénomégalie palpable
4. Augmentation des LDH au-delà de la norme supérieure ou du seuil de référence local
5. Erythroblastes sanguins
Le diagnostic de myélofibrose primitive avérée requiert les trois critères majeurs et au moins un des critères mineurs, retrouvé lors deux examens successifs. En italique sont indiquées les différences avec le stade de préfibrose (tableau IV)
* fibrose secondaire à une infection, une pathologie auto immune, une pathologie lymphoïde, des métastases médullaires, une atteinte médullaire toxique
Source : Arber 2016

3.2. La myélofibrose primitive avérée

Dans la MFP avérée, les critères majeurs sont conservés et doivent être présents (tableau III). La notion de leucocytose supérieure à 11 x 10⁹/L est introduite comme critère mineur à côté de l'anémie, de l'augmentation des LDH, de la présence d'une splénomégalie de la présence d'érythroblastes dans le sang circulant. Le diagnostic requiert également la présence d'au moins un de ces critères à deux contrôles successifs.

3.3. La myélofibrose primitive précoce

La nouvelle classification introduit la notion de phase pré fibrotique ou myélofibrose primitive précoce (tableau IV). Là également des critères majeurs et mineurs ont été identifiés et ce diagnostic associe les trois critères majeurs et au moins un critère mineur. Les critères mineurs proposés doivent encore faire leurs preuves en termes d'évolutivité de la prolifération. La recherche des marqueurs génétiques de clonalité doit être menée aussi loin que possible en recherchant les anomalies de *JAK2*, *CALR*, *MPL*, mais aussi, si nécessaire, de *ASXL1*, *EZH2*, *TET2*, *IDH1/IDH2*, *SRSF2* et *SF3B1*.

3.4. La thrombocythémie essentielle

Les critères de la thrombocythémie essentielle (TE) avérée sont peu modifiés. Il y a simplement l'introduction, au côté de la mutation V617F de *JAK2*, de la notion des mutations de *CALR* ou de *MPL* décrites depuis 2008. et l'absence de toute cause de thrombocytose réactionnelle qui devient un critère mineur (tableau V).

3.5. La leucémie chronique à neutrophiles

Les huit critères diagnostiques de la version 2008 de la classification ont été regroupés en 5 critères en mettant l'accent sur la présence de la forte association de cette prolifération à une mutation du gène *CSF3R* (tableau VI).

Tableau IV – Critères diagnostiques de la myélofibrose primitive précoce.

Critères majeurs
1. Prolifération mégacaryocytaire avec atypies, sans fibrose réticulinique > grade 1, avec augmentation de la richesse médullaire, prolifération granuleuse et souvent diminution de l'érythropoïèse
2. Absence des critères diagnostiques de LMC <i>BCR-ABL1+</i> , de PV, de TE, de syndrome myélodysplasique ou autre néoplasie myéloïde
3. Présence de mutation de <i>JAK2</i> , <i>CALR</i> ou <i>MPL</i> ou, en l'absence de ces mutations, présence d'un autre marqueur de clonalité (<i>ASXL1</i> , <i>EZH2</i> , <i>TET2</i> , <i>IDH1/IDH2</i> , <i>SRSF2</i> , <i>SF3B1</i>), ou absence de fibrose réticulinique mineure réactionnelle (grade 1)
Critères mineurs
1. Anémie non liée à une comorbidité
2. Hyperleucocytose > 11 x 10 ⁹ /L
3. Splénomégalie palpable
4. Augmentation des LDH au-delà de la norme supérieure ou du seuil de référence local
Le diagnostic de myélofibrose primitive précoce requiert 3 critères majeurs et au moins un critère mineur
Source : Arber 2016

Tableau V – Critères diagnostiques de la thrombocythémie essentielle.

Critères majeurs
1. Plaquettes > 450 x 10 ⁹ /L
2. Biopsie médullaire avec prolifération surtout de la lignée mégacaryocytaire avec une augmentation du nombre de formes matures de grande taille avec un noyau hyperlobé. Pas d'augmentation significative ou de shift gauche des lignées granuleuse et érythroblastique et très rarement augmentation minime de la réticulinique (grade 1)
3. Absence des critères diagnostiques de LMC <i>BCR-ABL1+</i> ; PV, MFP, syndrome myélodysplasique ou autre néoplasie myéloïde
4. Mutation des gènes <i>JAK2</i> , <i>CALR</i> ou <i>MPL</i>
Critère mineur
Présence d'un marqueur de clonalité ou absence d'étiologie de thrombocytose réactionnelle
Le diagnostic de TE requiert les quatre critères majeurs ou les trois premiers critères majeurs et le critère mineur
Source : Arber 2016

Tableau VI – Critères diagnostiques de la leucémie chronique à neutrophiles

1. Leucocytes sanguins > = 25 x 10 ⁹ /L – Polynucléaires > 80 % des leucocytes – Précurseurs (promyélocytes, myélocytes et méta myélocytes) < 10 % – Myéloblastes : rarement observés – Monocytes < 1 x 10 ⁹ /L – Absence de dysgranulopoïèse
2. Moelle osseuse hypercellulaire – Augmentation en nombre et proportion des granuleux – Maturation granuleuse normale – Myéloblastes < 5 %
3. Absence des critères diagnostiques de LMC <i>BCR-ABL1+</i> ; PV, TE ou pré Myélofibrose
4. Pas de réarrangement des gènes <i>PDGFRA</i> , <i>PDGFRB</i> , <i>FGFR1</i> ou <i>PCM1-JAK2</i>
5. Présence de la mutation <i>CSF3RT6181</i> ou d'autre mutation activatrice de <i>CSF3R</i>
ou, en l'absence de mutation de <i>CSF3R</i> , persistance de la polynucléose au moins 3 mois, splénomégalie et absence de cause identifiable de polynucléose réactionnelle dont l'absence de pathologie plasmocytaire ou, si présent, démonstration de la clonalité des cellules myéloïdes en cytogénétique ou biologie moléculaire
Source : Arber 2016

Tableau VII – Critères diagnostiques de la leucémie chronique à éosinophiles.

1. Présence d'une éosinophilie $> 1,5 \times 10^9/L$
2. Absence de BCR-ABL1, d'autre néoplasie proliférative ou Syndrome myélodysplasique/néoplasie myéloproliférative (SMD/NPM)
3. Absence de t(5 ;12)(q31-35;p13) ou autre réarrangement de *PDGFRB*
4. Absence de gène de fusion *FIP1L1-PDGFR* ou autre réarrangement de *PDGFR*
5. Absence de réarrangement de *FGFR1*
6. Pas plus de 20 % de blaste dans le sang et la moelle et absence d'inv(16) ou de t(16 ;16) ou d'autre anomalie diagnostique de leucémie aiguë myéloïde
7. Anomalie clonale cytogénétique ou moléculaire ou plus de 2 % de blastes dans le sang périphérique ou plus de 5 % dans la moelle osseuse

Tous ces critères sont indispensables pour porter le diagnostic positif

Source : Arber 2016

3.6. La leucémie chronique à éosinophiles

Il n'y a pas de modification des critères diagnostiques édictés en 2008 (tableau VII).

3.7. Les mastocytoses

Les mastocytoses considérées comme des SMP en 2008, sont clairement mises à part en raison des nouvelles connaissances dans ce domaine. La classification distingue maintenant de façon nette les mastocytoses cutanées des mastocytoses systémiques, ces dernières étant définies par leur évolution clinique qui peut aller de la forme la plus indolente à la plus agressive. La forme systémique associée à une néoplasie hématologique est la nouvelle dénomination, simplifiée, de la forme associée à une prolifération hématologique clonale non mastocytaire ! Les critères B et C, histologiques et cliniques définis en 2008 restent inchangés et indispensables au diagnostic de ces formes (tableau VIII).

4. Conclusion

L'évolution de la classification est nécessaire pour tenir compte des nouvelles connaissances. Cette version de la classification est pour les SMP marquée par le retour en force de la biopsie ostéomédullaire dans les SMP Ph1 négatif qui ne va pas être forcément aisée à pratiquer de

Tableau VIII – Critères diagnostiques des mastocytoses

1. Mastocytoses cutanées (CM)
2. Mastocytoses systémiques :
 - Mastocytose systémique indolente* (ISM)
 - Mastocytose systémique de modérément progressif* (SSM)
 - Mastocytose systémique associée à une néoplasie hématologique* (SM-AHN)
 - Mastocytose systémique agressive* (ASM)
 - Leucémie à mastocytes (MCL)
3. Sarcome à mastocytes

*: le diagnostic de ces entités requiert des informations concernant les critères B et C pour établir le diagnostic final, toutes n'étant pas toujours disponibles lors de l'examen anatomopathologique initial.

Critères B :

- (1) biopsie ostéo médullaire avec plus de 30 % de mastocytes et/ou Tryptase sérique $> 200\text{ng/ml}$;
- (2) Signes de dysplasie ou de myéloprolifération des autres lignées cellulaires mais sans les critères suffisants pour définir une hémopathie maligne, avec une numération sanguine normale ou sub-normale;
- (3) Hépatomégalie sans anomalie fonctionnelle et/ou une splénomégalie palpable sans hypersplénisme et/ou des adénopathies à la palpation ou en imagerie.

Critères C :

- (1) Dysfonctionnement médullaire se traduisant par une ou plusieurs cytopénies mais sans hémopathie maligne manifeste;
- (2) Hépatomégalie palpable avec perturbations de la fonction hépatique, ascite et/ou hypertension portale;
- (3) Lésions ostéolytiques de grande taille ou fractures pathologiques;
- (4) Splénomégalie palpable avec hypertension portale;
- (5) Malabsorption avec perte de poids due à l'infiltration de la muqueuse gastro intestinale par les mastocytes.

() : abréviations correspondant à la terminologie anglo-saxonne.

Source : Arber 2016

façon systématique quand on dispose déjà une anomalie moléculaire assez caractéristique. Un autre élément important est l'abaissement des seuils d'hémoglobine et d'hématocrite dans la définition de la PV qui vont amener à faire beaucoup de bilans diagnostiques dans un futur proche.

Liens d'intérêts: les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article.

Remerciements

Pr M. Imbert, Pr V. Ugo

Références

- [1] Harris NL, Jaffe ES, Stein H, et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. *Blood*. 1 sept 1994;84(5):1361-92.
- [2] Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, et al. The World Health Organization classification of neoplastic diseases of the hematopoietic and lymphoid tissues. Report of the Clinical Advisory Committee meeting, Airlie House, Virginia, November, 1997. *Ann Oncol Off J Eur Soc Med Oncol*. déc 1999;10(12):1419-32.
- [3] Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood*. 30 juill 2009;114(5):937-51.
- [4] Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 19 mai 2016;127(20):2391-405.
- [5] Rowley JD. Letter: A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence

and Giemsa staining. *Nature*. 1 juin 1973;243(5405):290-3.

- [6] Bartram CR, Kleihauer E, de Klein A, et al. C-abl and bcr are rearranged in a Ph1-negative CML patient. *EMBO J*. mars 1985;4(3):683-6.
- [7] Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, et al. Somatic mutations of calreticulin in myeloproliferative neoplasms. *N Engl J Med*. 19 déc 2013;369(25):2379-90.
- [8] Pardanani AD, Levine RL, Lasho T, et al. MPL515 mutations in myeloproliferative and other myeloid disorders: a study of 1182 patients. *Blood*. 15 nov 2006;108(10):3472-6.
- [9] Scott LM, Tong W, Levine RL, et al. JAK2 exon 12 mutations in polycythemia vera and idiopathic erythrocytosis. *N Engl J Med*. 1 févr 2007;356(5):459-68.
- [10] Druker BJ, Tamura S, Buchdunger E, et al. Effects of a selective inhibitor of the Abl tyrosine kinase on the growth of Bcr-Abl positive cells. *Nat Med*. mai 1996;2(5):561-6.
- [11] Gambacorti-Passerini C, le Coutre P, Mologni L, et al. Inhibition of the ABL kinase activity blocks the proliferation of BCR/ABL+ leukemic cells and induces apoptosis. *Blood Cells Mol Dis*. déc 1997;23(3):380-94.

Épidémiologie des syndromes myéloprolifératifs chroniques

Marc Maynadié^{a, b, c, *}

RÉSUMÉ

Les néoplasies myéloprolifératives chroniques, comme on doit les appeler maintenant, en dehors de la leucémie myéloïde chronique (LMC), ont fait l'objet de nombreux ajustements en termes de classification ce qui explique le peu de données disponibles sur leurs caractéristiques épidémiologiques. Cependant leur taux d'incidence standardisé sur la population mondiale montre que ce sont des maladies rares avec un chiffre variant de 1,7 pour la thrombocythémie essentielle (TE) à 0,3/100 000 habitants/an pour la myélofibrose primitive (MF). La survie nette à 5 ans est proche de 95 % pour la polyglobulie de Vaquez (PV) et la TE mais reste de 55 % pour la MF. L'incidence de la LMC est, elle, légèrement inférieure à 1 et stable depuis longtemps. En revanche l'arrivée des inhibiteurs de tyrosine kinase a révolutionné le pronostic et la survie nette à 5 ans est de plus de 80 %.

Incidence - survie - syndromes myéloprolifératifs chroniques.

1. Introduction

Les syndromes myéloprolifératifs chroniques, ou néoplasies myéloprolifératives chroniques, en dehors de la leucémie myéloïde chronique, ou SMP PH1 négatif, sont des pathologies connues depuis longtemps par les hématologues mais qui n'ont été reconnues comme malignes que relativement récemment par la classification internationale des maladies (CIM). Elles ont en effet été intégrées à la partie oncologie de la classification (ICD-O-3) en 2000 avec une actualisation des critères diagnostiques en 2008 [1,2]. Cela explique que les données sur leurs caractéristiques épidémiologiques sont rares. Les registres spécialisés dans les hémopathies, une spécialité française, permettent de connaître avec précision l'incidence et la survie de ces pathologies.

Les données sur la leucémie myéloïde chronique sont plus anciennes en raison de la découverte de l'anomalie cytogénétique qui la caractérise, la translocation réciproque entre les chromosomes 9 et 22 décrit par J Rowley en 1973 [3].

a Service d'Hématologie Biologique

Pôle de Biologie/Pathologie

CHU de Dijon

2 rue Angélique Ducoudray - 21079 Dijon cedex.

b Registre des Hémopathies Malignes de Côte d'Or

Faculté des Sciences de Santé

7 Boulevard Jeanne d'Arc - 21070 DIJON cedex

c INSERM U1231

* Correspondance

marc.maynadié@chu-dijon.fr

marc.maynadié@u-bourgogne.fr

SUMMARY

Chronic myeloid leukemia epidemiologic data

Diagnosis criteria of myeloid neoplasms, besides chronic myeloid leukemia (CML), have been regularly modified, explaining the rarity of epidemiologic data for these diseases. In this article we report a summary of information from various population-based registries. World-population standardized incidence rate was varying from 1.7 for essential thrombocythemia (ET) to 0.3/100 000 inh/year for primary myelofibrosis (PM). The 5-years net survival was close to 95 % for ET and polycythaemia Vera (PV) but was still 55 % for PM. Incidence of CML was lower than 1/100 000 inh/year and stable for many years. On the contrary the net survival has been tremendously upgraded since the use of tyrosine kinase Inhibitors and was now close to 80 % at 5 years after the diagnosis.

Incidence - survival - myeloproliferative neoplasms.

Elle est tout aussi rare que les autres SMP mais elle survient chez des sujets plus jeunes et a une évolution spontanément péjorative. Son histoire a été bouleversée par la mise au point du traitement inhibiteur de tyrosine kinase qui en a fait une maladie chronique dont on discute aujourd'hui l'arrêt du traitement.

Dans cet article sont présentées les données épidémiologiques en population générale les plus récentes qui pourront vous permettre d'actualiser vos connaissances et être utiles pour votre pratique quotidienne.

2. Les syndromes myéloprolifératifs chroniques PH1 négatif

Sous ce terme sont essentiellement regroupées trois entités principales appartenant au même spectre de maladies et partageant de nombreuses caractéristiques cliniques ou biologiques. Il s'agit de la polyglobulie de Vaquez (PV ; code ICD-O-3 : 9999/3), la thrombocythémie essentielle (TE ; code ICD-O-3 : 9999/3) et la myélofibrose primitive (MP ; code ICD-O-3 : 9999/3). Les modifications de la classification publiée en 2016 ne sont pas bien sûr intégrées dans la pratique des registres et donc dans les données évoquées ici.

2.1. Incidence et prévalence

À partir de la base FRANCIM des registres de cancer en France, le nombre de cas de SMP PH1 négatif, en 2012, était estimé à 1965 (988 chez les hommes et 977 chez les femmes).

article reçu le 12 février 2017, accepté le 2 mars 2017.

© 2017 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

Les taux d'incidence brute étaient respectivement de 3,2 et 3,0 nouveaux cas/100 000 h/an alors que les taux standardisés sur la population mondiale étaient de 1,8 et 1,4 nouveaux cas/100 000 h/an. Ces pathologies surviennent 1,3 fois plus chez l'homme que chez la femme à un âge avancé puisque l'âge médian de survenue est de 69 ans chez l'homme et 73 ans chez la femme [4].

2.1.1. La polyglobulie de Vaquez

Les données des registres spécialisés permettent d'avoir des données par pathologie. Ainsi les taux d'incidence de la PV sont sensiblement identiques dans les 3 régions françaises couvertes avec une incidence de 0,7 en Basse Normandie, 0,9 en Côte-d'Or et 1,2 en Gironde [5,6]. On peut ainsi grossièrement évaluer le nombre de nouveaux cas en France à 600 par an. En Norvège, les taux d'incidence standardisée sont un peu inférieurs mais augmentent régulièrement depuis 1993. Ils sont actuellement de 0,8 et de 0,7 chez l'homme et chez la femme et l'âge de survenue est identique [7]. En Allemagne il est de 0,7 mais en Suède il monte à 2,2/100 000 h/an. Les données européennes issues de la base Haemacare montrent que cette incidence est de 1,5/100 000h/an. Une méta-analyse récente sur les données européennes a rapporté des variations de ce taux d'incidence [8]. Aux États Unis, l'incidence est de 1,3 chez l'homme et 0,8 chez la femme ; légèrement supérieure chez les sujets de race blanche et les non hispaniques. En Corée ces taux d'incidence sont très proches, variant de 1,0 à 1,5 /100 000h/an. Là aussi la pathologie est plus fréquente chez l'homme que chez la femme. L'évolution de l'incidence au fil du temps de la PV est assez stable partout dans le monde [7,9,10].

L'âge médian de survenue de la PV est de 69 ans, identique dans tous les pays du monde sauf en Corée où il est de 59 ans et le sex ratio est globalement de 1,3. Les données de prévalence sont difficilement comparables car les méthodes de calcul ne sont pas toujours identiques cependant quelques données existent dans la littérature. Ainsi la prévalence était de 4,96/100 000 habitants en Europe en 2002, de 9,2 en Norvège en 2011, de 5,43 en Corée du sud en 2013 et de 5,71 aux USA [7,8,10,11].

2.1.2. La thrombocythémie essentielle

Les taux d'incidence de la TE ont beaucoup changé à la suite de deux événements : le passage de 600 000 à 450 000/mm³ plaquettes comme seuil de suspicion dans la classification OMS 2008 et la découverte de la mutation *JAK2* V617F. En effet chez de nombreux patients, il était difficile de porter de façon certaine un tel diagnostic, en particulier au début de la maladie, ce qui sous estimait l'incidence réelle de cette pathologie. En Côte-d'Or, la pratique systématique de la recherche de cette mutation a fait passer le taux d'incidence standardisée de 1,2 à 3 [12]. Ce résultat est aussi observé dans d'autres pays d'Europe et aux USA [7,9,13]. C'est la raison pour laquelle les taux d'incidence publiés avant cette classification et la découverte de la mutation, dans les différents registres en Europe, sont relativement bas, voisins de 0,4 à partir des données Haemacare, 0,8 en Allemagne et 1,6 en Suède (8,14). La mise en évidence des autres mutations (exon 12 de *JAK2*, *MPL*,

CALR) contribuera encore à améliorer ces données. La TE est caractérisée par un sex ratio inversé avec une prédominance féminine ce qui est assez rare dans les hémopathies malignes.

L'incidence en Corée est de 2,4/100 000 h/an (2,1 chez l'homme et 2,7 chez la femme)[10]. Aux États Unis les taux d'incidence standardisés, sur la population américaine, sont de 0,9 avec un sex ratio de 0,8 [13]. En Europe, elle est de 1,0 en Norvège (0,9 chez l'homme et 1,1 chez la femme) et de 1,25 à 2 en France selon les régions et les périodes [5,8]. Le nombre de nouveaux cas de TE peut être évalué à environ 1 000 par an en France

L'âge médian de survenue est sensiblement le même que celui des autres SMP Ph1 négatif, proche de 70 ans dans les pays occidentaux alors qu'il n'est que de 55 ans en Corée [10].

La prévalence de la TE varie en Europe de 4 à 11 selon les séries avec 8,6 en Norvège, 11 au Danemark et 6,8 en Espagne [7,8,15].

2.1.3. La myélofibrose primitive

Elle est beaucoup plus rare et de façon homogène puisque son taux incidence standardisée est de 0,2 à 0,4/100 000 h/an en France, 0,5 en Norvège, 0,3 aux USA et 0,4 en Corée. Le nombre de nouveaux cas en France est ainsi voisin de 200 par an. Cette incidence augmente en Norvège mais est stable aux USA et en Corée probablement à cause de différences de pratiques cliniques. Le sex ratio est là aussi homogène, avec une légère prédominance masculine (1,8 aux USA) [4,5,7,10,13]. L'âge de survenue est de 64 ans en Corée, 68 ans aux USA, 65 ans en Côte-d'Or mais généralement plus élevé dans les séries européennes avant 2010 probablement là aussi à cause des différences de pratique.

La prévalence de la MF est de 0,71/100 000 habitants en Corée et de 0,51/100 000 en Europe (Rarecare) mais de 3/100 000 en Norvège [16].

2.2. Survie

Les données de survie dans les travaux publiés sont de deux types : la survie observée qui ne tient pas compte des causes de mortalité et la survie relative ou nette qui est celle due uniquement à la pathologie en cause. Quand cela est possible, on donnera la survie relative ou nette, plus pertinente.

En France et en Grande Bretagne les données de survie disponibles sont celles des SMP PH1- regroupés. Ainsi en France à 5 ans la survie nette standardisée était de 83 %, pour les patients diagnostiqués entre 2005 et 2010. La survie chez les femmes était de 90 % alors que celle des hommes était de 76 %. Cette survie est comme souvent moins bonne chez les sujets de 75 ans et plus (78 % chez la femme et 57 % chez l'homme) [4]. En Grande Bretagne, la survie était de 93 % à 5 ans, 93,9 % chez l'homme et 94,3 % chez la femme [17]. Les données européennes montrent que cette survie s'est légèrement améliorée au fil du temps en particulier dans les pays d'Europe de l'Est et du Centre [18].

2.2.1. La polyglobulie de Vaquez

En Norvège, la survie à 5 ans est de 94 % chez l'homme et de 91 % chez la femme, diminuant légèrement au fil

Tableau I – Données épidémiologiques synthétiques des SMP.

	Taux d'incidence standardisé sur la population mondiale (/100 000 h/an)			âge médian		Sex ratio	Survie relative à 5 ans standardisée (%)		
	Tous	Homme	Femme	Homme	Femme		Tous	Homme	Femme
Polyglobulie de Vaquez	0,9	1	0,8	69	73	1,3	93	90	96
Thrombocytémie essentielle	1,7	1,5	1,8	70	72	1,8	96	-	-
Myélofibrose primitive	0,3	0,4	0,2	65	68	2	55	32	59
Leucémie myéloïde Chronique BCR-ABL positive	0,8	1	0,7	62	64	1,7	82	81	85

© Marc Maynadié

des ans. En Côte-d'Or, la survie était de 93 % à 5 ans, de 77 % à 10 ans et de 75 % à 15 ans. Aux USA, la survie à 5 ans est de 92 % dans la PV chez les sujets les sujets de moins de 60 ans et de 79 % chez ceux de plus de 60 ans [5,7,13]. Les données de la base Medicare aux USA rapportent quant à elle des données de survie beaucoup plus basse avec un chiffre de 53,1 % à 5 ans, reflet des spécificités de ce système public qui accueille de nombreux patients défavorisés [19].

2.2.2. La thrombocytémie essentielle

En Norvège la survie relative à 5 ans est de 94 % chez l'homme et 97,2 % chez la femme chez qui elle est en diminution légère mais notable [7]. En Côte-d'Or, la survie relative à 5 ans est de 93 %, passe à 83 % à 10 ans et n'est plus que de 63 % à 15 ans traduisant le moins bon pronostic à long terme de cette prolifération par rapport à la PV [5]. Aux USA les données de population indiquent une survie à 5 ans de 96,7 % chez les sujets de moins de 60 ans et de 87,9 % chez les sujets de plus de 60 ans [13]. Là aussi, les données de Medicare aux USA sont terriblement plus basses avec une survie à 5 ans de 53,2 % [19].

2.2.3. La myélofibrose primitive

Le pronostic est beaucoup moins bon que dans les deux précédentes pathologies. Ainsi la survie en Côte-d'Or n'est que 55 % à 5 ans, 29 % à 10 ans et 4 % à 15 ans. En Norvège cette survie à 5 ans s'est améliorée passant de 50 % à 59,5 % chez l'homme depuis 2003. Aux USA la survie est sensiblement identique dans la population générale mais reste catastrophique dans la population prise en charge dans MEDICARE (18,3 %) [5,7,13,19].

3. La leucémie myéloïde chronique

3.1. Incidence

En France le nombre de nouveaux cas des LMC diagnostiqués en 2102 était estimé à 807, 476 chez l'homme et 331 chez la femme. Le taux d'incidence standardisé de la LMC en France était de 1,0/100 000 h/an chez l'homme et de 0,6/100 000 h/an chez la femme [4]. Le sex ratio était de 1,7 et l'âge médian de diagnostic était de 63 ans. Globalement on observe une diminution progressive de l'incidence standardisée en France entre 1980 et 2012 [4].

En Grande Bretagne le taux d'incidence standardisé sur la population mondiale est de 0,69/100 000 h/an ; 0,87 chez l'homme et 0,52 chez la femme [17]. En Espagne, le taux d'incidence standardisé sur la population européenne est de 1,04/100 000 h/an avec quelques variations régionales et un sex ratio voisin de 1,4 et un âge médian de 54 ans [15,20]. Aux USA les taux sont légèrement supérieurs mais les données sont standardisées sur la population américaine. Les taux sont de 3,8 chez l'homme et de 2,7 chez la femme avec un sex ratio de 1,4 [13].

3.2. Survie

La survie nette à 5 ans de la LMC en France est de 85 % pour les patients diagnostiqués entre 2005 et 2010, soit en pleine ère des inhibiteurs de tyrosine kinase. En effet pour les patients diagnostiqués entre 1989 et 1993, la survie standardisée à 5 ans était de 49 % et de 22 % à 10 ans. L'arrivée des ITK a été spectaculaire avec une survie à 10 ans de 60 % pour les patients diagnostiqués entre 1999 et 2004 [21]. Dans un travail associant les trois registres spécialisés et le réseau Hématolim, la survie relative à 5 ans est passée de 44 % pour les patients diagnostiqués avant 1986 à 87 % chez ceux diagnostiqués depuis 2000 [22]. Les données européennes issues de la base Eurocare (2000-2007) montrent qu'il existe une meilleure survie chez la femme que chez l'homme (55,5 % vs 50,6 %), cette différence étant observée dans tous les pays. Cette base permet aussi de montrer la persistance de la différence de survie relative entre les différents pays, particulièrement basse dans les pays d'Europe de l'Est (67 % en Suède et 26 % en Pologne) [23]. L'amélioration est cependant notable pour tous quel que soit l'âge des patients [18]. Ces différences sont aussi retrouvées chez l'enfant quand on compare les données des pays d'Europe du Sud et de l'Est à celles du SEER [24]. Aux USA les données du SEER montrent que la survie relative à 5 ans est passée de 32 % pour les patients diagnostiqués en 1990 à 64 % pour ceux diagnostiqués en 2008. (<https://seer.cancer.gov/statfacts/html/cmly.html>).

4. Conclusion

Les SMP (*tableau I*) sont des pathologies rares dont l'incidence reste voisine de 1/100 000 h/an sans grande variabilité dans les différents pays du monde, dans lesquels

ils sont diagnostiqués. Les nouvelles connaissances, notamment moléculaires, ont modifié les critères diagnostiques mais cela n'a pas fondamentalement ou durablement changé leur incidence. En revanche, la mise au point des inhibiteurs de tyrosine kinase a bouleversé le pronostic de la LMC qui est devenue l'emblème de la pathologie bénéficiant à plein de la thérapie ciblée. Cette pathologie est devenue une vraie pathologie chronique. Sauf pour la myélofibrose

primitive qui reste plus grave, la survie à 5 ans de ces pathologies est maintenant devenue proche de 80 à 90 % ce qui est remarquable. La prévalence devient donc de plus en plus importante et doit nous amener à adapter nos structures et nos organisations pour leur prise en charge optimale.

Liens d'intérêts: les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article.

Références

- [1] Harris NL, Jaffe ES, Diebold J, et al. The World Health Organization classification of neoplasms of the hematopoietic and lymphoid tissues: report of the Clinical Advisory Committee meeting--Airlie House, Virginia, November, 1997. *Hematol J Off J Eur Haematol Assoc.* 2000;1(1):53-66.
- [2] Vardiman JW, Thiele J, Arber DA, et al. The 2008 revision of the World Health Organization (WHO) classification of myeloid neoplasms and acute leukemia: rationale and important changes. *Blood.* 30 juill 2009;114(5):937-51.
- [3] Rowley JD. Letter: A new consistent chromosomal abnormality in chronic myelogenous leukaemia identified by quinacrine fluorescence and Giemsa staining. *Nature.* 1 juin 1973;243(5405):290-3.
- [4] Le Guyader-Peyrou S, Belot A, Maynadié M, et al. Cancer incidence in France over the 1980-2012 period: Hematological malignancies. *Rev d'Epidémiologie Santé Publique.* avr 2016;64(2):103-12.
- [5] Maynadié M, Girodon F, Manivet-Janoray I, et al. Twenty-five years of epidemiological recording on myeloid malignancies: data from the specialized registry of hematologic malignancies of Cote d'Or (Burgundy, France). *Haematologica.* 1 janv 2011;96(1):55-61.
- [6] Troussard X, Duchenet V, Cornet E, et al. [Haematological malignancies: incidence in Basse-Normandie, France, for 1997-2004]. *Rev Epidemiol Sante Publique.* juin 2009;57(3):151-8.
- [7] Roaldsnes C, Holst R, Frederiksen H, et al. Myeloproliferative neoplasms: trends in incidence, prevalence and survival in Norway. *Eur J Haematol.* janv 2017;98(1):85-93.
- [8] Moulard O, Mehta J, Fryzek J, et al. Epidemiology of myelofibrosis, essential thrombocythemia, and polycythemia vera in the European Union. *Eur J Haematol.* avr 2014;92(4):289-97.
- [9] Deadmond MA, Smith-Gagen JA. Changing incidence of myeloproliferative neoplasms: trends and subgroup risk profiles in the USA, 1973-2011. *J Cancer Res Clin Oncol.* déc 2015;141(12):2131-8.
- [10] Byun JM, Kim YJ, Youk T, et al. Real world epidemiology of myeloproliferative neoplasms: a population based study in Korea 2004-2013. *Ann Hematol.* 27 déc 2016;
- [11] Mehta J, Wang H, Iqbal SU, et al. Epidemiology of myeloproliferative neoplasms in the United States. *Leuk Lymphoma.* mars 2014;55(3):595-600.
- [12] Girodon F, Bonicelli G, Schaeffer C, et al. Significant increase in the apparent incidence of essential thrombocythemia related to new WHO diagnostic criteria: a population-based study. *Haematologica.* juin 2009;94(6):865-9.
- [13] Srouf SA, Devesa SS, Morton LM, et al. Incidence and patient survival of myeloproliferative neoplasms and myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms in the United States, 2001-12. *Br J Haematol.* août 2016;174(3):382-96.
- [14] Sant M, Allemani C, Tereanu C, et al. Incidence of hematologic malignancies in Europe by morphologic subtype: results of the HAEMACARE project. *Blood.* 11 nov 2010;116(19):3724-34.
- [15] Osca-Gelis G, Puig-Vives M, Saez M, et al. Population-based incidence of myeloid malignancies: fifteen years of epidemiological data in the province of Girona, Spain. *Haematologica.* août 2013;98(8):e95-97.
- [16] Visser O, Trama A, Maynadié M, et al. Incidence, survival and prevalence of myeloid malignancies in Europe. *Eur J Cancer Oxf Engl.* 1990. nov 2012;48(17):3257-66.
- [17] Roman E, Smith A, Appleton S, et al. Myeloid malignancies in the real-world: Occurrence, progression and survival in the UK's population-based Haematological Malignancy Research Network 2004-15. *Cancer Epidemiol.* juin 2016;42:186-98.
- [18] Sant M, Minicozzi P, Mounier M, et al. Survival for hematological malignancies in Europe between 1997 and 2008 by region and age: results of EURO-CARE-5, a population-based study. *Lancet Oncol.* août 2014;15(9):931-42.
- [19] Price GL, Davis KL, Karve S, et al. Survival patterns in United States (US) medicare enrollees with non-CML myeloproliferative neoplasms (MPN). *PloS One.* 2014;9(3):e90299.
- [20] Osorio S, Casado LF, Giraldo P, et al. Chronic myeloid leukaemia in Spain: Its presentation characteristics have changed. Spanish section of the EUTOS population-based registry. *Rev Clin Esp.* sept 2016;216(6):293-300.
- [21] Monnereau A, Uhry Z, Bossard N, et al. *Survie des personnes atteintes de cancer en France métropolitaine 1989-2013.* Vol. 2. Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice; 2016.
- [22] Penot A, Preux P-M, Le Guyader S, et al. Incidence of chronic myeloid leukemia and patient survival: results of five French population-based cancer registries 1980-2009. *Leuk Lymphoma.* juin 2015;56(6):1771-7.
- [23] De Angelis R, Minicozzi P, Sant M, et al. Survival variations by country and age for lymphoid and myeloid malignancies in Europe 2000-2007: Results of EURO-CARE-5 population-based study. *Eur J Cancer Oxf Engl.* 1990. 6 sept 2015;
- [24] Karalexi MA, Baka M, Ryzhov A, et al. Survival trends in childhood chronic myeloid leukaemia in Southern-Eastern Europe and the United States of America. *Eur J Cancer Oxf Engl.* 1990. nov 2016;67:183-90.

Biologie moléculaire de la leucémie myéloïde chronique : dernières avancées

Jean-Claude Chomel^{a,*}

RÉSUMÉ

La leucémie myéloïde chronique (LMC) est un modèle de cancérogenèse. Son pronostic a été exceptionnellement amélioré grâce aux inhibiteurs de tyrosine kinase ou ITK (imatinib, dasatinib, nilotinib, bosutinib, ponatinib). Le suivi moléculaire, basé sur la quantification des ARNm *BCR-ABL1* par RQ-PCR et l'analyse mutationnelle du domaine tyrosine kinase d'ABL, facilite la vérification de l'efficacité thérapeutique. De nouvelles technologies (PCR digitale, séquençage haut débit ou NGS) ont été développées afin d'améliorer les performances des méthodes existantes. Des recommandations internationales permettent d'adapter le traitement de manière optimale. Des essais cliniques ont ouvert la voie aux arrêts d'ITK chez des patients en rémission moléculaire profonde et de longue durée. Chez près de 50 % des patients, l'ARNm *BCR-ABL1* n'est pas détecté après interruption du traitement. En ce qui concerne les patients restant, il est nécessaire d'analyser en détail les causes de la rechute moléculaire. La persistance de cellules souches leucémiques réfractaires aux ITK pourrait expliquer ce résultat. Des stratégies visant à éliminer ces cellules résiduelles en ciblant la niche hématopoïétique ou directement les cellules souches leucémiques sont en cours de développement. Le système immunitaire joue sans doute un rôle fondamental dans le contrôle des cellules leucémiques résiduelles, rôle qu'il convient de préciser.

***BCR-ABL1* - inhibiteurs de tyrosine kinase -
Leucémie myéloïde chronique - suivi moléculaire.**

1. Introduction

La biologie de la LMC aujourd'hui

L'espérance de vie des patients atteints de leucémie myéloïde chronique (LMC) est aujourd'hui à peine inférieure à celle de la population générale. Grâce à une thérapie ciblée extrêmement efficace reposant sur des inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK), la LMC se distingue de la majorité des autres hémopathies malignes au pronostic nettement plus défavorable. De plus, certains patients (en réponse moléculaire profonde et de longue durée) sont éligibles à des stratégies d'arrêt de traitement. Sur le plan clinique, la LMC est donc devenue une affection chronique contrôlée

^a Unité Médicale d'Onco-Hématologie Moléculaire

Service de Cancérologie Biologique

CHU de Poitiers

2 Rue de la Milétrie - 86021 Poitiers

* Correspondance

jean-claude.chomel@chu-poitiers.fr

SUMMARY

Chronic Myeloid Leukemia (CML) biology: last updates

Chronic Myeloid Leukemia (CML) is a well-known model of oncogenesis. Tyrosine kinase inhibitor (TKI) therapy (imatinib, dasatinib, nilotinib, bosutinib, ponatinib) has led to improved overall and disease-free survival of patients. The molecular monitoring, based on the quantification of *BCR-ABL1* mRNA by RQ-PCR and the mutation analysis of the ABL tyrosine kinase domain, assess drug effectiveness. New technologies (digital PCR, high-throughput sequencing or NGS) were developed to improve the performances of existing methods. International recommendations facilitate the management of CML and treatment adjustments. Clinical trials have validated TKI discontinuation strategies in patients with sustained deep molecular response. In nearly 50% of patients, *BCR-ABL1* mRNA is never detected after treatment cessation. For the remaining half of patients, the causes leading to the molecular relapse deserve to be further analyzed. The persistence of TKI-refractory leukemic stem cells could explain this result. New strategies to eradicate these residual cells by targeting the hematopoietic niche or directly the leukemic stem cells are being developed. Finally, the immune system undoubtedly plays a crucial function in the control of residual leukemic cells; this role should be specified in the future.

***BCR-ABL1* - tyrosine kinase inhibitors -
Chronic myeloid leukemia - molecular monitoring.**

pour la majorité des patients. Si la plupart des pièces du puzzle sont en place, il reste néanmoins des points à améliorer, des zones d'ombre à éclaircir et de nouveaux projets à développer (figure 1).

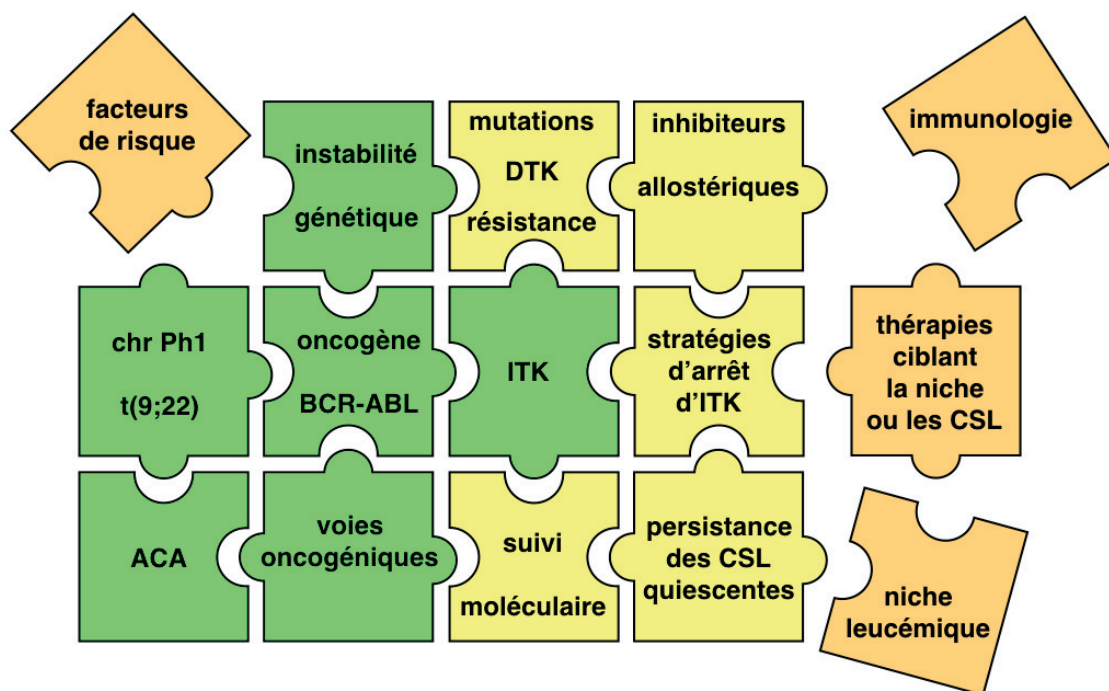
1.1. Données acquises

Depuis la découverte du chromosome Ph1 par Nowell et Hungerford (1960) et la caractérisation de la translocation réciproque t(9;22)(q34;q11) par Janet Rowley (1973), les recherches concernant la LMC se sont enchaînées à un rythme effréné [1]. L'oncogène *BCR-ABL* a été caractérisé, ainsi que les voies de signalisation qu'il perturbe, entraînant l'activation de la prolifération cellulaire, l'inhibition de l'apoptose et de l'adhésion cellulaire, et une instabilité génétique. Au vu du mécanisme princeps de la leucémogénèse induite par *BCR-ABL*, une fonction tyrosine kinase activée de manière constitutive, des stratégies

article reçu le 25 janvier 2017, accepté le 17 février 2017.

© 2017 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

Figure 1 – LMC : état des lieux.



Ce puzzle schématise les points essentiels recouvrant tous les aspects de la LMC, qu'ils soient en grande partie établis (en vert), en cours d'acquisition (en orange). ACA, anomalies cytogénétiques additionnelles; DTK, domaine tyrosine kinase; ITK, inhibiteurs de tyrosine kinase; CSL, cellules souches leucémiques.
© Jean-Claude Chomel

visant à inhiber cette fonction et donc à bloquer les voies de signalisation en aval ont été développées. Trois générations d'ITK (ITK-1, ITK-2, ITK-3) sont aujourd'hui disponibles : l'imatinib (ITK-1), le nilotinib, le dasatinib, le bosutinib (ITK-2) et le ponatinib (ITK-3). Ces drogues sont des inhibiteurs compétitifs de l'ATP et bloquent l'activation de la kinase BCR-ABL. Le dasatinib et le bosutinib se fixent sur leur cible quelle que soit sa conformation (active ou inactive), l'imatinib, le nilotinib et le ponatinib ne se fixent que sur la conformation inactive de BCR-ABL [2]. Grâce à cette thérapie ciblée et au nombre de produits disponibles, permettant une adaptation thérapeutique en cas de résistance ou d'intolérance, la majorité des patients atteignent une réponse moléculaire profonde.

1.2. Etudes en cours

Le suivi moléculaire de la LMC par la quantification des ARNm *BCR-ABL1* s'est largement standardisé ces dix dernières années. Afin de gagner encore en sensibilité, de nouvelles technologies sont en cours de développement comme la PCR digitale. La recherche de mutations du domaine kinase de BCR-ABL permet d'objectiver une résistance à un ITK et d'adapter le traitement de façon optimale. L'utilisation du séquençage haut débit (NGS pour *next generation sequencing*) devrait faciliter la détection et le suivi des clones mutés. Sur le plan thérapeutique, les inhibiteurs ciblant non pas le site ATP, mais un site allostérique sont en cours d'essais thérapeutiques. Ils induisent une diminution de l'activité tyrosine kinase par un changement de conformation de l'enzyme.

Certains patients, en réponse moléculaire profonde, peuvent se voir proposer un arrêt de traitement. Plusieurs protocoles d'arrêt d'imatinib ou d'ITK-2, montrent que globalement la moitié des patients conserve une réponse moléculaire profonde en l'absence de traitement. Si ces résultats sont spectaculaires, ils posent la question de la persistance de cellules souches leucémiques (CSL) qui pourraient être protégées au sein d'une niche hématopoïétique particulière (la niche leucémique). Ainsi, la guérison fonctionnelle de la LMC est obtenue chez la plupart des patients. Cependant, la guérison réelle de cette hémopathie ne peut être envisagée s'il reste des CSL pouvant initier une hématopoïèse leucémique. Dans cette optique, des thérapies ciblant la niche et/ou les CSL sont développées. De plus, une meilleure compréhension des mécanismes immunologiques jouant un rôle dans le développement de la LMC, ainsi que dans le contrôle du clone de CSL résiduelles après arrêt de traitement (concept d'immunosurveillance) est indispensable. Enfin, les relations CSL quiescentes, niche hématopoïétique et système immunologique doivent être expliquées.

2. Le suivi moléculaire de la LMC

2.1. La RQ-PCR

La RQ-PCR (PCR quantitative sur ADNc) est la méthode de référence pour le suivi des patients atteints de LMC. Elle repose sur une technique de PCR en temps réel développée à la fin des années 1990 et sans cesse améliorée afin d'être actuellement une méthode en grande partie standardisée.

2.1.1. Les étapes de la standardisation

Au niveau européen, les sondes et amorces permettant la quantification des ARNm de fusion *BCR-ABL1* les plus communément détectés dans la LMC (e13a2/b2a2 et e14a2/b3a2) et des ARNm de référence (*ABL1*, *B2M* pour β -2 microglobuline, *GUSB* pour β -glucuronidase) ont été définies au sein du programme EAC (*Europe Against Cancer*) [3,4]. Des gammes plasmidiques, d'abord élaborées dans chaque laboratoire, puis industrielles permettent de réaliser une quantification absolue du nombre de copies *BCR-ABL1* et *ABL1* (utilisé comme référence en Europe), et donc d'effectuer le suivi des ARNm de fusion *BCR-ABL1* par le pourcentage *BCR-ABL1/ABL1*. En France, le Groupe des Biologistes Moléculaires des Hémopathies Malignes (GBMHM) a mis en place l'harmonisation des pratiques expérimentales, les recommandations de validations techniques et un contrôle national de qualité.

Afin d'obtenir des données comparables d'un laboratoire à l'autre, les résultats sont désormais exprimés selon une échelle internationale (IS pour *international scale*) grâce à des facteurs de conversion (FC) propres à chaque laboratoire. Ces FC sont déterminés par échange d'échantillons biologiques avec le laboratoire de référence national, lui-même étalonné avec les laboratoires de référence internationaux. Le pourcentage de transcrits *BCR-ABL1* s'exprime alors par le rapport :

$$\% \text{ BCR-ABL1/ABL1}^{\text{IS}} = 100 \times \frac{\text{nombre de copies BCR-ABL1}}{\text{nombre de copies ABL1}} \times \text{FC}$$

Un panel de référence génétique international pour la quantification des ARNm *BCR-ABL1* par RQ-PCR a été développé par le NIBSC (*National Institute for Biological Standards and Control*) pour l'OMS [5]. Les FC peuvent être définis à chaque expérience grâce à un étalon calibré sur le matériel de référence primaire. Récemment, des contrôles de qualité internes (ARN stabilisés) ont été mis au point [6].

2.1.2. Les limites de la quantification des ARNm *BCR-ABL1* par RQ-PCR

En Europe, la plupart des laboratoires utilisent *ABL1* comme contrôle interne. Cependant, les amorces décrites par l'EAC pour la quantification *ABL1* amplifient également *BCR-ABL1*. Par conséquent, plus la quantité d'ARNm *BCR-ABL1* est importante (par exemple au diagnostic), plus le rapport *BCR-ABL1/ABL1* est sous-estimé [7]. Au-dessus d'un ratio *BCR-ABL1/ABL1* théorique de 15-20 %, la quantification des ARNm *BCR-ABL1* par RQ-PCR utilisant le contrôle *ABL1* n'est donc pas appropriée. Il faudrait alors utiliser d'autres gènes contrôles comme *GUSB* qui n'entraîne pas de telles distorsions. Il a été également montré que l'utilisation d'un seul gène contrôle pouvait être à l'origine d'erreurs. Il serait possible d'employer un contrôle interne déterminé mathématiquement à partir de l'expression de plusieurs gènes de ménage. Cette méthode est déjà utilisée dans l'analyse des puces d'expression, cependant elle est peu applicable à l'analyse de routine.

Enfin, en dessous d'un pourcentage *BCR-ABL1/ABL1* de 0,01 %, il existe une grande variabilité entre les réplicats, nécessitant une interprétation adéquate des variations d'expression.

2.2. Autres méthodes

2.2.1. La RT-PCR digitale

La PCR digitale (ou numérique) permet la quantification absolue des acides nucléiques sans avoir recours à une courbe standard. Son principe repose sur le fractionnement d'un échantillon d'ADN ou d'ADNc dans de multiples microcompartiments (en émulsion ou en microchambres) au sein desquels sont réalisées des PCR en point final indépendantes. Les compartiments positifs et négatifs sont déterminés et la quantification peut être réalisée en appliquant la loi de Poisson qui tient compte des compartiments positifs ayant reçu plus d'une molécule cible. Cette méthodologie a été appliquée avec succès au suivi moléculaire de la LMC [8]. La RT-PCR digitale semble être une méthode robuste et capable de quantifier de faibles quantités de transcrits *BCR-ABL1*. Cependant, la plupart des systèmes de PCR digitale auraient une limite de détection à peine meilleure que celle obtenue par RQ-PCR. L'augmentation de la quantité d'ADNc analysée devrait améliorer la sensibilité de cette technologie qui pourrait alors détrôner la RQ-PCR, surtout si les résultats obtenus restent fiables sur l'ensemble de la plage de mesure.

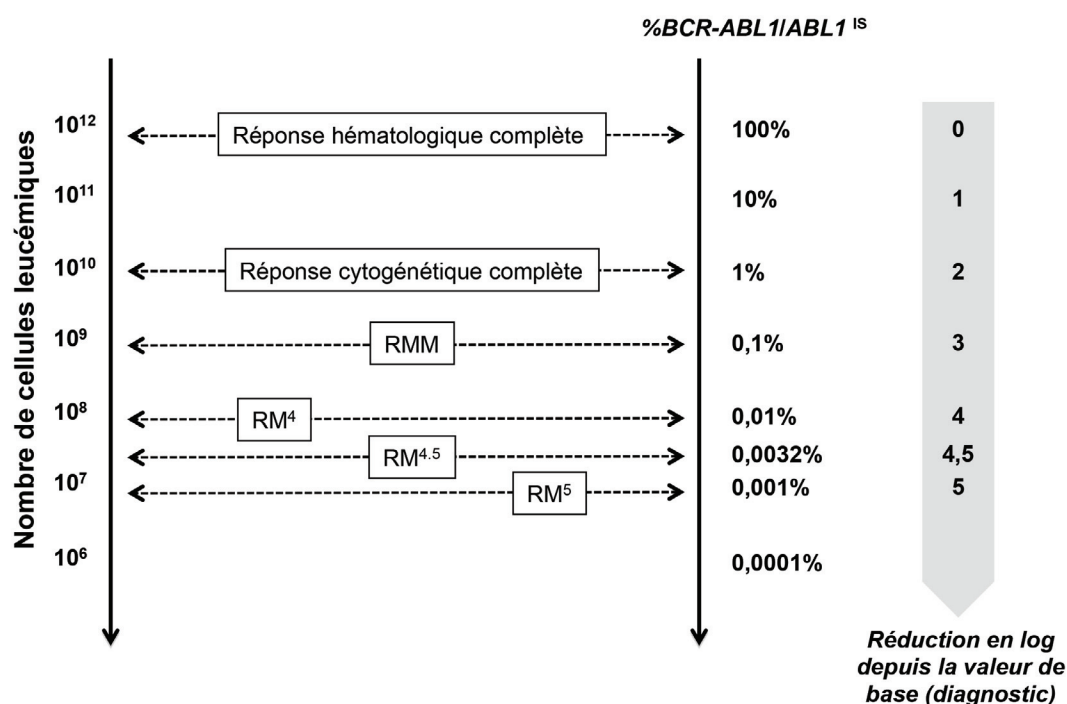
2.2.2. La PCR sur ADN

Cette méthode est rarement utilisée car les points de cassure au niveau des zones introniques de *BCR* et d'*ABL1* diffèrent d'un patient à l'autre et doivent être préalablement caractérisés. Cependant, la PCR sur ADN génomique est la seule méthodologie qui relie directement le résultat à une quantité de cellules leucémiques. Elle est plus précise que la RQ-PCR dans la zone de réponse moléculaire profonde et a une limite de détection plus basse ($1:10^6$). La PCR sur ADN a ainsi démontré la persistance de cellules leucémiques chez des patients en rémission moléculaire profonde avec RQ-PCR négative [9].

2.2.3. Les recommandations pour le suivi de la maladie résiduelle

L'expression du rapport *BCR-ABL1/ABL1* selon l'échelle internationale (IS) a permis, en se basant sur l'étude IRIS (*International Randomized study of Interferon versus STI571*) de définir plusieurs seuils (réponses moléculaires ou RM) permettant de vérifier l'efficacité thérapeutique (figure 2) [10]. Ces points sont définis comme une diminution de 3, 4, 4½ ou 5 logarithmes décimaux par rapport à une ligne de base théorique au diagnostic (définie par *BCR-ABL1/ABL1* = 100 %). Ainsi une valeur de 0,1 % correspond à la réponse moléculaire majeure (RMM ou RM³), des valeurs de 0,01 %, 0,0032 %, 0,001 % définissent respectivement les réponses moléculaires RM⁴, RM^{4.5} et RM⁵. Dans le même système, un ratio de 1 % correspond approximativement à la réponse cytogénétique complète. La définition des réponses moléculaires

Figure 2 – Les différents types de réponses moléculaires.



L'expression du rapport $BCR-ABL1/ABL1$ sur l'échelle internationale (IS) définit la réponse moléculaire majeure (RMM), les réponses moléculaires profondes (RM⁴, RM^{4.5} et RM⁵). Même lorsque la RM⁵ est atteinte, il reste en théorie plus d'un million de cellules leucémiques dans l'organisme. D'après [10]

profondes (RM⁴, RM^{4.5} et RM⁵) repose sur des critères clairement définis. Dans le cas d'un *ARNm BCR-ABL1* indétectable, le nombre de copies *ABL1* permet d'établir la sensibilité de la RQ-PCR et le type de réponse (**tableau I**). Dans le cas d'un transcrit *BCR-ABL1* détectable, le ratio $BCR-ABL1/ABL1$, ainsi que le nombre de

copies *ABL1* définissent ensemble le type de réponse [11]. Des critères internationaux ont permis de stratifier les réponses au traitement par ITK, selon les données hématologiques, cytogénétiques et moléculaires. Les recommandations européennes de l'ELN (*European LeukemiaNet*) définissent ainsi les réponses optimales, suboptimales et les échecs au traitement par ITK utilisé en première ou en deuxième ligne (**tableau II**) [12].

Tableau I - Définition des réponses moléculaires profondes

Transcrit <i>BCR-ABL1</i>	Conditions	Réponses moléculaires profondes		
		RM ⁴	RM ^{4.5}	RM ⁵
Indétectable	nombre de copies <i>ABL1</i>	> 10 000	> 32 000	> 100 000
DéTECTABLE et	et $BCR-ABL1/ABL1^{IS} \leq 10\%$	$\leq 0,01\%$	$\leq 0,0032\%$	$\leq 0,001\%$
	ou $Ph1 \leq 35\%$			
	nombre de copies <i>ABL1</i>	> 10 000	> 32 000	> 100 000

Source: d'après [11]

Tableau II - Définition des réponses optimales selon les critères ELN 2013

Durée du traitement	Réponses optimales	
	ITK première ligne	ITK seconde ligne
3 mois	$BCR-ABL1/ABL1^{IS} \leq 10\%$ ou $Ph1 \leq 35\%$	$BCR-ABL1/ABL1^{IS} \leq 10\%$ ou $Ph1 < 65\%$
6 mois	$BCR-ABL1/ABL1^{IS} \leq 1\%$ ou $Ph1 = 0$ (RCC)	$BCR-ABL1/ABL1^{IS} \leq 10\%$ ou $Ph1 \leq 35\%$ (RCM)
12 mois	$BCR-ABL1/ABL1^{IS} \leq 0,1\%$ (RMM)	$BCR-ABL1/ABL1^{IS} \leq 1\%$ ou $Ph1 = 0$ (RCC)

RCC, réponse cytogénétique complète; RCM, réponse cytogénétique majeure; RMM, réponse moléculaire majeure.

Source: d'après [12]

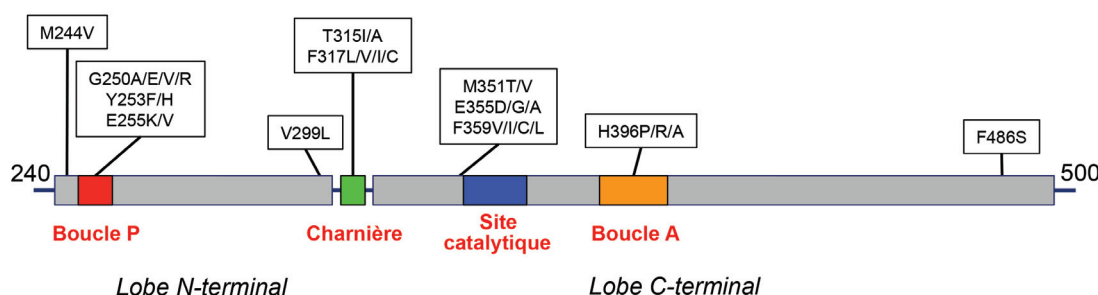
3. La résistance aux ITK

Le phénomène de résistance a d'abord été observé avec l'imatinib. Il peut être dû à différentes causes, dépendantes ou non de *BCR-ABL*. Les mutations du domaine tyrosine kinase de *BCR-ABL* représentent le mécanisme le plus étudié de résistance aux ITK.

3.1. Les mutations du domaine kinase de *BCR-ABL*

Plus de 100 mutations faux sens ont été impliquées dans des résistances plus ou moins importantes à l'imatinib [13,14]. Les mutations les plus fréquemment rencontrées sont localisées dans les zones fonctionnelles du domaine tyrosine kinase d'*ABL*, au sein de la protéine *BCR-ABL* (exons 4 à 9 d'*ABL1* correspondant aux acides aminés 240 à 500). Les mutations touchant les acides aminés 250, 253, 255 sont localisées au niveau de la boucle P (site de fixation du phosphate de l'ATP), les mutations T315I et F317L dans la zone charnière entre les lobes N et C-terminaux, les mutations en 351, 355 et 359 en amont du site catalytique et les substitutions H396P/R dans la boucle A ou boucle

Figure 3 – Les mutations du domaine kinase de BCR-ABL.



Les mutations représentées sur le schéma sont détectées dans plus de 80 % des cas de résistance aux inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK).
© Jean-Claude Chomel

d'activation (figure 3). Les ITK-2 ont montré une efficacité sur la plupart des mutants à l'origine d'une résistance à l'imatinib. Outre la mutation T315I pour laquelle tous les ITK-2 sont inefficaces, les mutations de la boucle P et la mutation F359V entraînent une résistance au nilotinib et les mutants V299L, T315A et F317L/V sont résistants au dasatinib [13]. Le ponatinib (ITK-3) apparaît efficace sur toutes les mutations, y compris sur la substitution T315I. La stratégie de séquençage après PCR-clonage (non applicable en analyse de routine) a permis de mettre en évidence deux types de mutations, les mutations majoritaires (transcrits mutés > 10-15 %) détectées par les méthodes conventionnelles (séquençage Sanger) et les mutations minoritaires (transcrits mutés < 10-15 %). Ces dernières sont soit associées à une mutation majoritaire, soit indépendantes [15]. Si le rôle des mutations majoritaires dans la résistance aux ITK est connu, celui des mutations minoritaires ne l'est pas. Il pourrait s'agir de mutations accompagnatrices sans réel effet, mais pouvant être un signe d'instabilité génétique. Lors d'une recherche de mutation du domaine tyrosine kinase de BCR-ABL, il n'est pas rare de détecter plus d'une anomalie (le plus souvent 2). Ces mutations doubles peuvent être présentes sur la même molécule d'ARNm *BCR-ABL1* (la même cellule) ; il s'agit alors de mutations composées (mutation A/mutation B). Lorsqu'elles sont présentes sur deux ARNm différents (2 cellules) ; il s'agit de mutations polyclonales (mutation A + mutation B). Dans 70 % des cas, les mutations doubles sont des mutations composées. Ces mutations pourraient induire une résistance plus forte aux ITK. Ainsi, le ponatinib serait inefficace sur des mutations comme par exemple Y253H/T315I, E255V/T315I ou Y253H/E255V [16]. Cette hypothèse semble cependant controversée.

3.2. La détection des mutations par les techniques conventionnelles

Le séquençage direct double brin par la méthode de Sanger reste la méthode de référence [14]. Pour être restreint à BCR-ABL, il doit se faire en 2 étapes : d'abord une amplification d'un fragment *BCR-ABL1*, puis plusieurs amplifications chevauchantes correspondant au domaine kinase d'ABL. Cependant, la limite de détection de la méthode est faible (de l'ordre de 10-15 %). Pour améliorer la sensibilité, des techniques de balayage permettant la détection de mutants faiblement exprimés (jusqu'à 2-5 %) ont été

développées [14]. Elle nécessite cependant une caractérisation par séquençage après détection d'une anomalie nucléotidique. Enfin, la technique de RT-PCR (ou RQ-PCR) spécifique d'allèle atteint une sensibilité de $1/10^4$, ce qui permet la détection de clones mutés très minoritaires et/ou le suivi de la cinétique d'apparition ou de disparition d'une mutation préalablement caractérisée.

3.3. Intérêt de la détection des mutations par NGS

Le NGS permet la détection des mutations du domaine kinase de BCR-ABL, après une première étape de RT-PCR nichée [17]. La limite de détection (de l'ordre de 1 %) autorise le dépistage des mutations à l'origine d'une résistance aux ITK plus précocement, mais aussi la détection des mutations minoritaires (additionnelles ou indépendantes). Si le NGS est capable de mettre en évidence des mutations doubles, la distinction entre mutations polyclonales et mutations composées peut être difficile du fait de la petite taille des fragments séquencés (*short-read lengths*). Dans ce cas, des technologies de NGS longue distance (*long-range NGS*) peuvent à la fois assurer une sensibilité élevée, donc la détection de mutations minoritaires et la caractérisation de mutations composées [18]. En résumé, l'analyse NGS facilite le suivi des ARNm mutés et contribue à une meilleure compréhension de l'architecture clonale des populations mutées.

4. La persistance des cellules souches leucémiques

Les protocoles d'interruption d'imatinib chez les patients en réponse moléculaire profonde de longue durée sont à l'origine d'une rechute moléculaire dans plus de la moitié des cas, le plus souvent dans les 7 mois suivant l'arrêt [19]. Chez des patients en rémission moléculaire profonde, la persistance de cellules souches leucémiques a été démontrée, notamment par la technique de culture à long terme (LTC-IC) [20]. Ce phénomène pourrait expliquer les rechutes observées chez la plupart des patients chez qui le traitement est arrêté, d'autant plus que les ITK ne permettraient pas d'éradiquer les cellules souches leucémiques quiescentes les plus primitives [21]. Si les ITK sont extrêmement efficaces sur les cellules leucémiques

Tableau III - Possibilités thérapeutique d'éradication des cellules souches leucémiques.

	Cible	Composé
1- Niche leucémique	Axe CXCR4/CXCL12 Cytokines stromales Effets pléiotropiques	plerixafor inhibiteurs de JAK2, G-CSF interféron- α
2- Quiescence	Voie FOXO/TGF β Voie PI3K/AKT/mTOR Acétylation ALOX5a PML Autophagie PPAR- γ Protéine phosphatase 2A TP53/MYC	inhibiteurs de TGF β évérolimus, temsirolimus panobinostat zileuton Trioxyside d'arsenic hydroxychloroquine pioglitazone fingolimod inhibiteurs de l'interaction p53/MDM2 inhibiteur du bromodomaine
3- Autorenouvellement	Voie Wnt/ β -caténine Voie Hedgehog	indométacine inhibiteurs de GSK-3 β Inhibiteurs de SMO
4- Prolifération	Tyrosine kinase BCR-ABL	ITK (imatinib, dasatinib, nilotinib, bosutinib, ponatinib) inhibiteurs allostériques

© Jean-Claude Chomel

matures et les précurseurs leucémiques, ils ne pourraient détruire complètement le pool de cellules souches leucémiques résiduelles du microenvironnement médullaire (niche hématopoïétique) qu'après une très longue période d'utilisation.

De nombreuses drogues permettant une érosion plus rapide du compartiment souche ont montré leur efficacité en délogeant les cellules souches de LMC d'une niche hématopoïétique qui les protège, ou en agissant sur la quiescence ou l'autorenouvellement de ces cellules (**tableau III**). Toutefois, ces agents sont rarement spécifiques de l'hématopoïèse leucémique et donc peuvent conduire à des toxicités importantes. On peut cependant souligner ici l'intérêt de deux médicaments déjà utilisés en pratique clinique ; l'Interféron- α et la pioglitazone. L'Interféron- α , traitement de référence de la LMC avant l'ère des ITK, pourrait exercer de nombreuses actions sur la cellule souche leucémique, soit dans la remise en cycle des cellules quiescentes au niveau de la niche, soit par son effet immunomodulateur. Sur le plan clinique, de meilleurs taux de réponse moléculaire ont été observés avec l'association imatinib/Interféron- α par rapport à l'imatinib seul [22]. La pioglitazone (un ligand pharmacologique du récepteur PPAR- γ), ayant été utilisée dans le traitement du diabète de type 2, réduit l'expression de la protéine STAT5 impliquée dans le maintien de l'état de quiescence. Dans une étude pilote, la combinaison imatinib/pioglitazone a montré son efficacité dans l'érosion du compartiment souche leucémique [23]. Récemment, une étude basée sur le concept de biologie des systèmes (intégration d'analyses transcriptomiques et protéomiques) a mis en évidence un réseau moléculaire au sein duquel le gène suppresseur de tumeur TP53 et l'oncogène MYC apparaissent comme indispensables à la survie des cellules souches de LMC [24]. En se basant sur ce postulat, les auteurs proposent qu'une activation de TP53, concomitante d'une inhibition de MYC pourrait conduire à l'élimination spécifique des cellules souches leucémiques.

5. Autres points importants

5.1. Des facteurs de risque à préciser

Si le rôle crucial de l'oncogène *BCR-ABL1* dans le déclenchement de la LMC est clairement établi, on ne sait que peu de chose sur les mécanismes conduisant à la formation de la translocation t(9;22). Il a été démontré que des facteurs environnementaux, comme l'exposition aux radiations ionisantes (survivants d'Hiroshima et de Nagasaki), augmentaient le risque de LMC. Existe-t-il des facteurs génétiques (héréditaires ou non) prédisposant à l'acquisition de l'anomalie BCR-ABL ? Il a été proposé que des séquences répétées localisées au niveau des loci *ABL1* et *BCR* pourraient favoriser l'alignement des chromosomes 9 et 22, la survenue de cassures chromosomiques spontanées et finalement le réarrangement *BCR-ABL1* [25]. Concernant les facteurs génétiques héréditaires, plusieurs SNP (*single nucleotide polymorphisms*) ont été identifiés comme pouvant être associés à une prédisposition à développer une LMC [26]. Il est à noter que les gènes portant ces SNP jouent un rôle dans la différenciation hématopoïétique, l'apoptose, la survie cellulaire et l'immunosurveillance. Les facteurs environnementaux et génétiques pouvant favoriser la translocation t(9;22) représentent ainsi l'une des dernières zones d'ombre de la leucémogénèse BCR-ABL qu'il convient d'éclaircir.

5.2. Des analyses cytogénétiques à ne pas négliger

Les analyses de cytogénétique effectuées au diagnostic de la maladie (caryotype conventionnel ou FISH pour *fluorescent in situ hybridization*) permettent d'individualiser 4 groupes d'anomalies [27].

- Les translocations t(9;22)(q34;q11) classiques sont détectées dans plus de 90 % des cas.
- Les translocations variantes sont retrouvées dans moins de 10 % des cas et font intervenir un ou plusieurs autres chromosomes partenaires.

- Les insertions cryptiques d'*ABL1* dans *BCR* ou vice versa sont rarement observées.
- Les anomalies chromosomiques additionnelles (mises en évidence en plus du réarrangement *BCR-ABL1*) peuvent être présentes au diagnostic ou survenir au cours de l'évolution de la maladie.

Il a été montré récemment que ces anomalies chromosomiques additionnelles avaient un impact important sur le pronostic de la maladie [28]. Certaines sont de relativement bon pronostic comme la trisomie 8 (+8), la perte du chromosome Y (-Y) ou la duplication du chromosome Ph1, d'autres sont de pronostic plus défavorable comme l'isochromosome 17q (i(17)(q10)), la délétion complète ou partielle du chromosome 7 (-7/del7q), ou les réarrangements 3q26.2. Il a également été montré que la présence de plus d'une anomalie chromosomique additionnelle a un impact négatif sur la survie. Malgré l'apport majeur de la biologie moléculaire dans la LMC, les analyses cytogénétiques demeurent indispensables au diagnostic et dans le suivi de la maladie jusqu'à l'obtention de la réponse cytogénétique complète. Elles sont aussi essentielles lors de la survenue de résistance aux ITK ou d'une rechute cytogénétique.

5.3. La détection et le suivi des variants *BCR-ABL1* rares

Au diagnostic, tous les réarrangements moléculaires *BCR-ABL1* connus doivent pouvoir être détectés, les réarrangements classiques e13a2 et e14a2 (point de cassure M-bcr), mais aussi les réarrangements plus rares comme e13a3 ou e14a3 (M-bcr), e1a2 ou e1a3 (m-bcr), e19a2 (μ -bcr), e6a2 (ν -bcr). Des réarrangements pouvant impliquer des cassures au niveau exonique, des insertions ou délétions, ou un autre gène partenaire ont été décrits et doivent pouvoir être mis en évidence [29]. Il est clair que le suivi des transcrits *BCR-ABL1* exprimé sur l'échelle internationale ne peut s'appliquer aux patients présentant des réarrangements autres que e13a2 et e14a2. Les rares patients concernés peuvent néanmoins être suivis de façon acceptable avec des RQ-PCR personnalisées [29]. L'analyse du transcriptome par NGS (aussi appelé RNA-seq), devrait faciliter la caractérisation rapide des ARNm de fusion *BCR-ABL1* quels que soient les points de cassure [30]. Enfin, la PCR digitale devrait assurer un suivi moléculaire optimal chez ces patients.

6. Conclusion

La LMC occupe une place particulière au sein des hémopathies malignes. Depuis plus de 50 ans, les connaissances concernant cette maladie se sont accumulées sans cesse pour aboutir aujourd'hui à des traitements particulièrement actifs et même à une espérance de rémission complète après arrêt de traitement. La biologie de la LMC est devenue essentielle tant pour le suivi de la maladie permettant des choix thérapeutiques optimaux, que pour une meilleure compréhension des mécanismes de leucémogénèse. La LMC ne pourra être cependant considérée comme guérie que si toutes les cellules leucémiques (y compris les cellules souches leucémiques quiescentes) sont éradiquées. Les nouvelles avancées technologiques (PCR digitale, NGS, RNA-seq), médicales (inhibiteurs allostériques) et biologiques (facteurs de prédisposition, niche leucémique, cellules souches leucémiques résiduelles, système immunitaire) permettront, sans nul doute, de porter un coup fatal à la leucémie myéloïde chronique.

Liens d'intérêts : l'auteur déclare ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article.

Ce qu'il faut retenir

- Grâce aux inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK), la LMC est désormais une affection contrôlée pour la plupart des patients.
- Dans cette hémopathie, la biologie revêt une importance majeure tant au diagnostic que dans le suivi de la maladie résiduelle.
- La quantification des ARN *BCR-ABL1* est de plus en plus standardisée.
- Le suivi moléculaire et la détection des clones résistants aux ITK devraient bénéficier des nouvelles technologies (PCR digitale et séquençage haut débit).
- Des stratégies d'éradication des cellules souches de LMC sont en cours de développement.

Références

- [1] Goldman JM. Chronic myeloid leukemia: a historical perspective. *Semin Hematol* 2010;47(4):302-11.
- [2] Modugno M. New resistance mechanisms for small molecule kinase inhibitors of Abl kinase. *Drug Discov Today Technol* 2014;11:5-10.
- [3] Gabert J, Beillard E, van der Velden VH, et al. Standardization and quality control studies of 'real-time' quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction of fusion gene transcripts for residual disease detection in leukemia - a Europe Against Cancer program. *Leukemia* 2003;17(12):2318-57.
- [4] Beillard E, Pallisaard N, van der Velden VH, et al. Evaluation of candidate control genes for diagnosis and residual disease detection in leukemic patients using 'real-time' quantitative reverse-transcriptase polymerase chain reaction (RQ-PCR) - a Europe against cancer program. *Leukemia* 2003;17(12):2474-86.
- [5] White HE, Matejtschuk P, Rigsby P, et al. Establishment of the first World Health Organization International Genetic Reference Panel for quantitation of BCR-ABL mRNA. *Blood* 2010;116(22):e111-7.
- [6] Fabre AL, Colotte M, Luis A, et al. An efficient method for long-term room temperature storage of RNA. *Eur J Hum Genet* 2014;22(3):379-85.
- [7] Cross NC. Standardisation of molecular monitoring for chronic myeloid leukaemia. *Best Pract Res Clin Haematol* 2009;22(3):355-65.
- [8] Alikian M, Whale AS, Akiki S, et al. RT-qPCR and RT-Digital PCR: A Comparison of Different Platforms for the Evaluation of Residual Disease in Chronic Myeloid Leukemia. *Clin Chem* 2016.
- [9] Ross DM, Branford S, Seymour JF, et al. Patients with chronic myeloid leukemia who maintain a complete molecular response after stopping imatinib treatment have evidence of persistent leukemia by DNA PCR. *Leukemia* 2010;24(10):1719-24.

- [10] Hughes T, Branford S. Molecular monitoring of BCR-ABL as a guide to clinical management in chronic myeloid leukaemia. *Blood Rev* 2006;20(1):29-41.
- [11] Cross NC, White HE, Colomer D, et al. Laboratory recommendations for scoring deep molecular responses following treatment for chronic myeloid leukemia. *Leukemia* 2015;29(5):999-1003.
- [12] Baccarani M, Castagnetti F, Gugliotta G, et al. A review of the European LeukemiaNet recommendations for the management of CML. *Ann Hematol* 2015;94 Suppl 2:S141-7.
- [13] Preudhomme C, Cayuela J-M, Chomel J-C, et al. Recommandations du groupe FI-LMC pour la prise en charge des patients présentant des mutations du domaine tyrosine kinase de BCR-ABL dans les hémopathies malignes à chromosome Philadelphie. *Hématologie* 2010;16:65-79.
- [14] Soverini S, Hochhaus A, Nicolini FE, et al. BCR-ABL kinase domain mutation analysis in chronic myeloid leukemia patients treated with tyrosine kinase inhibitors: recommendations from an expert panel on behalf of European LeukemiaNet. *Blood* 2011;118(5):1208-15.
- [15] Khorashad JS, Kelley TW, Szankasi P, et al. BCR-ABL1 compound mutations in tyrosine kinase inhibitor-resistant CML: frequency and clonal relationships. *Blood* 2013;121(3):489-98.
- [16] Zabriskie MS, Eide CA, Tantravahi SK, et al. BCR-ABL1 compound mutations combining key kinase domain positions confer clinical resistance to ponatinib in Ph chromosome-positive leukemia. *Cancer Cell* 2014;26(3):428-42.
- [17] Machova Polakova K, Kulvait V, Benesova A, et al. Next-generation deep sequencing improves detection of BCR-ABL1 kinase domain mutations emerging under tyrosine kinase inhibitor treatment of chronic myeloid leukemia patients in chronic phase. *J Cancer Res Clin Oncol* 2015;141(5):887-99.
- [18] Kastner R, Zopf A, Preuner S, et al. Rapid identification of compound mutations in patients with Philadelphia-positive leukaemias by long-range next generation sequencing. *Eur J Cancer* 2014;50(4):793-800.
- [19] Mahon FX, Réa D, Guilhot J, et al. Discontinuation of imatinib in patients with chronic myeloid leukaemia who have maintained complete molecular remission for at least 2 years: the prospective, multicentre Stop Imatinib (STIM) trial. *Lancet Oncol* 2010;11:1029-35.
- [20] Chomel JC, Bonnet ML, Sorel N, et al. Leukemic stem cell persistence in chronic myeloid leukemia patients with sustained undetectable molecular residual disease. *Blood* 2011;118(13):3657-60.
- [21] Corbin AS, Agarwal A, Loriaux M, et al. Human chronic myeloid leukemia stem cells are insensitive to imatinib despite inhibition of BCR-ABL activity. *J Clin Invest* 2011;121(1):396-409.
- [22] Preudhomme C, Guilhot J, Nicolini FE, et al. Imatinib plus peginterferon alfa-2a in chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 2010;363(26):2511-21.
- [23] Prost S, Relouzat F, Spentchian M, et al. Erosion of the chronic myeloid leukaemia stem cell pool by PPAR γ agonists. *Nature* 2015;525(7569):380-3.
- [24] Abraham SA, Hopcroft LE, Carrick E, et al. Dual targeting of p53 and c-MYC selectively eliminates leukaemic stem cells. *Nature* 2016;534(7607):341-6.
- [25] Albano F, Anelli L, Zagaria A, et al. Genomic segmental duplications on the basis of the t(9;22) rearrangement in chronic myeloid leukemia. *Oncogene* 2010;29(17):2509-16.
- [26] Bruzzoni-Giovanelli H, González JR, Sigaux F, et al. Genetic polymorphisms associated with increased risk of developing chronic myelogenous leukemia. *Oncotarget* 2015;6(34):36269-77.
- [27] Albano F, Anelli L, Zagaria A, et al. Non random distribution of genomic features in breakpoint regions involved in chronic myeloid leukemia cases with variant t(9;22) or additional chromosomal rearrangements. *Mol Cancer* 2010;9:120.
- [28] Wang W, Cortes JE, Tang G, et al. Risk stratification of chromosomal abnormalities in chronic myelogenous leukemia in the era of tyrosine kinase inhibitor therapy. *Blood* 2016;127(22):2742-50.
- [29] Huet S, Dulucq S, Chauveau A, et al. Molecular characterization and follow-up of five CML patients with new BCR-ABL1 fusion transcripts. *Genes Chromosomes Cancer* 2015;54(10):595-605.
- [30] Maher CA, Kumar-Sinha C, Cao X, et al. Transcriptome sequencing to detect gene fusions in cancer. *Nature* 2009;458(7234):97-101.

Physiopathologie des néoplasies myéloprolifératives ; quand le microenvironnement s'enflamme !

Christophe Martinaud^{a,c}, Christophe Desterke^b, Marie-Caroline Le Bousse-Kerdilès^{c,d,*}

RÉSUMÉ

Le microenvironnement médullaire, ou niche hématopoïétique, est une structure complexe. À la fois spatiale et temporelle, elle est constituée d'éléments cellulaires, matriciels et cytokiniques qui participent au maintien des fonctions des cellules souches hématopoïétiques et à la régulation des processus de prolifération et de différenciation. Ce microenvironnement est un acteur essentiel des hémopathies. Les observations dans les modèles murins ont permis d'affirmer son rôle capital dans l'émergence, le maintien et la résurgence des clones hématologiques pathologiques. Dans les néoplasies myéloprolifératives, les altérations du microenvironnement sont en particulier reliées aux phénomènes inflammatoires. Une meilleure connaissance des anomalies des interactions entre ces différents éléments devrait permettre de faire émerger de nouvelles pistes thérapeutiques.

Cellules souches - inflammation - microenvironnement - néoplasies myéloprolifératives.

SUMMARY

Physiopathology of myeloproliferative neoplasms; when the stroma is set on fire !

Bone marrow microenvironment, also known as hematopoietic stem cell niche, is complex. Both anatomic and temporal, niches are constituted by cells, matrix components and cytokines, involved in the maintenance of hematopoietic stem cell (HSC) properties and in the regulation of their proliferation and differentiation. Niches played a role in hematological malignancies. In mice, experiences showed their role in the initiation of the disease, the resistance to treatment and the relapse. In myeloproliferative neoplasms, modifications of niches are notably in relation with inflammation. An improved knowledge of pathological interactions between niches and HSCs will lead to the identification of new therapeutic targets.

Stem cells - inflammation - microenvironment - myeloproliferative neoplasms.

1. Introduction

De William D à William V : l'histoire de trois maladies avec une physiopathologie commune

Les néoplasies myéloprolifératives (NMP), comme il convient actuellement de nommer les « syndromes myéloprolifératifs » selon la classification OMS des tumeurs des tissus lymphoïdes et hématopoïétiques, sont largement dominées sur le plan quantitatif au diagnostic par la leucémie myéloïde chronique (LMC). Cette hémopathie, caractérisée

par la translocation BCR-ABL à l'origine du chromosome Philadelphie, est l'archétype moléculaire des hémopathies myéloïdes chroniques par excellence [1]. À ses côtés, ceux que l'on désigne comme les NMP-Philadelphie négatifs regroupent trois entités, par ordre de fréquence : la thrombocythémie essentielle (TE), la polyglobulie de Vaquez (PV) et la myélofibrose primitive (MFP). Ces NMP ne sont pas seulement définies par opposition à la LMC, ils le sont aussi par leur histoire et leur physiopathologie. C'est l'histoire de deux « Williams » qui, à 50 ans d'intervalle, décrivent puis démontrent la part commune de ces maladies. En 1951, William Dameshek regroupa pour la première fois des entités cliniques et biologiques décrites depuis plusieurs décennies : la polyglobulie de Vaquez, la thrombocythémie essentielle, et la myélofibrose primitive. Les similitudes entre les patients font pressentir à Dameshek l'existence d'une communauté de mécanismes que William Vainchenker et son équipe déchiffreront en partie en 2005 avec la mise en évidence de la mutation V617F du gène JAK2, validant moléculairement l'intuition de son illustre prédécesseur [2]. Dix ans plus tard, le paysage moléculaire de ces hémopathies s'est grandement densifié avec les découvertes des mutations dans le gène MPL, dans celui de la calréticuline et dans de nombreux autres pouvant affecter la signalisation, la chromatine, l'épissage alternatif et la transcription [3].

a Département de Thérapie Cellulaire

Centre de Transfusion Sanguine des Armées
101, avenue Henri Barbusse – Clamart – France

b Inserm UMS33

14, avenue Paul-Vaillant Couturier – Villejuif, France

c Inserm UMR-S1197 - Hôpital Paul Brousse

Institut André Lwoff/Université Paris XI

Bâtiment Lavoisier

Hôpital Paul Brousse

14, Avenue Paul-Vaillant Couturier – 94807 Villejuif Cedex – France

d France Intergroupe des syndromes Myéloprolifératifs (FIM)

* Correspondance

caroline.le-bousse-kerdiles@inserm.fr

article reçu le 25 janvier 2017, accepté le 17 février 2017.

© 2017 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

Parallèlement et en lien avec la découverte de ces mutations, l'arsenal thérapeutique médicamenteux à la disposition des prescripteurs a lui aussi connu une augmentation importante. Et pourtant, certains malades ont encore un pronostic extrêmement sévère, résistants aux traitements ou évoluant rapidement vers une transformation aiguë leucémique de leur maladie. Une des clés de leur prise en charge est la meilleure compréhension des mécanismes physiopathologiques, en élargissant la focale afin de prendre en compte les éléments autres que le clone hématopoïétique malin et en particulier ceux du microenvironnement. Ces éléments, Schofield les a évoqués à la fin des années 70 et identifiés sous le terme de « niche » [4]. Aujourd'hui, ce microenvironnement au sein duquel, et par lequel, est physiologiquement régulé l'hématopoïèse, est considéré comme un acteur majeur de la physiopathologie des hémopathies. Au-delà même de l'hématologie, la notion qu'une cellule tumorale est influencée par son environnement et que cet environnement interagit fortement sur l'histoire de la maladie est très largement étudiée. Ainsi, depuis la description de cette niche pour les cellules souches, la compréhension du rôle de ce microenvironnement a bien évolué, le remplaçant comme un élément essentiel de la propagation, voire de l'initiation, des clones pathologiques mais aussi de leur sensibilité aux traitements et de la sanctuarisation de cellules souches leucémiques. L'objectif de cette revue est de présenter les principaux éléments constituant le microenvironnement physiologique et leur rôle dans l'hématopoïèse, avant d'aborder sa place dans la physiopathologie des NMP-Philadelphie négatifs et les conséquences sur la prise en charge des malades.

2. La complexité des niches hématopoïétiques

La cellule souche hématopoïétique (CSH) ne peut pas être considérée comme un élément dont les potentialités sont indépendantes de son environnement, communément nommé microenvironnement ou niche hématopoïétique. Il est constitué d'éléments cellulaires, matriciels et cytokiniques/chimiokaniques qui organisent la fonctionnalité et le devenir des CSH entre quiescence, prolifération/autorenouvellement et différenciation. Les niches hématopoïétiques sont présentes dans plusieurs tissus au cours du développement, de la zone aorte-gonade-mésonephros (AGM) et du sac vitellin, au placenta, foie fœtal, rate et plus tardivement, moelle osseuse. Chez l'homme, à l'âge adulte, la niche médullaire est la seule fonctionnelle à l'état physiologique. Cette constatation date de 1978, moment où Ray Schofield, Michael Dexter et Brian Lord ont établi le concept, mis en évidence la présence de cellules « supportrices » de l'hématopoïèse et identifié les structures endostéales comme lieu privilégié du « nichage » des CSH [4]. Les connaissances actuelles ont affiné ces premières notions de niches et on considère aujourd'hui qu'il existe des niches spécialisées, composées d'éléments multiples contribuant (de façon à la fois unique, mais aussi redondante) à leur élaboration. Ces niches sont composées d'acteurs cellulaires mais aussi acellulaires que sont les cytokines/facteurs de croissance, les chimiokines, les molécules intervenant dans l'adhésion

et la matrice extracellulaire (MEC) au sens large, c'est-à-dire les éléments fibrillaires ainsi que les molécules qui leur sont associées.

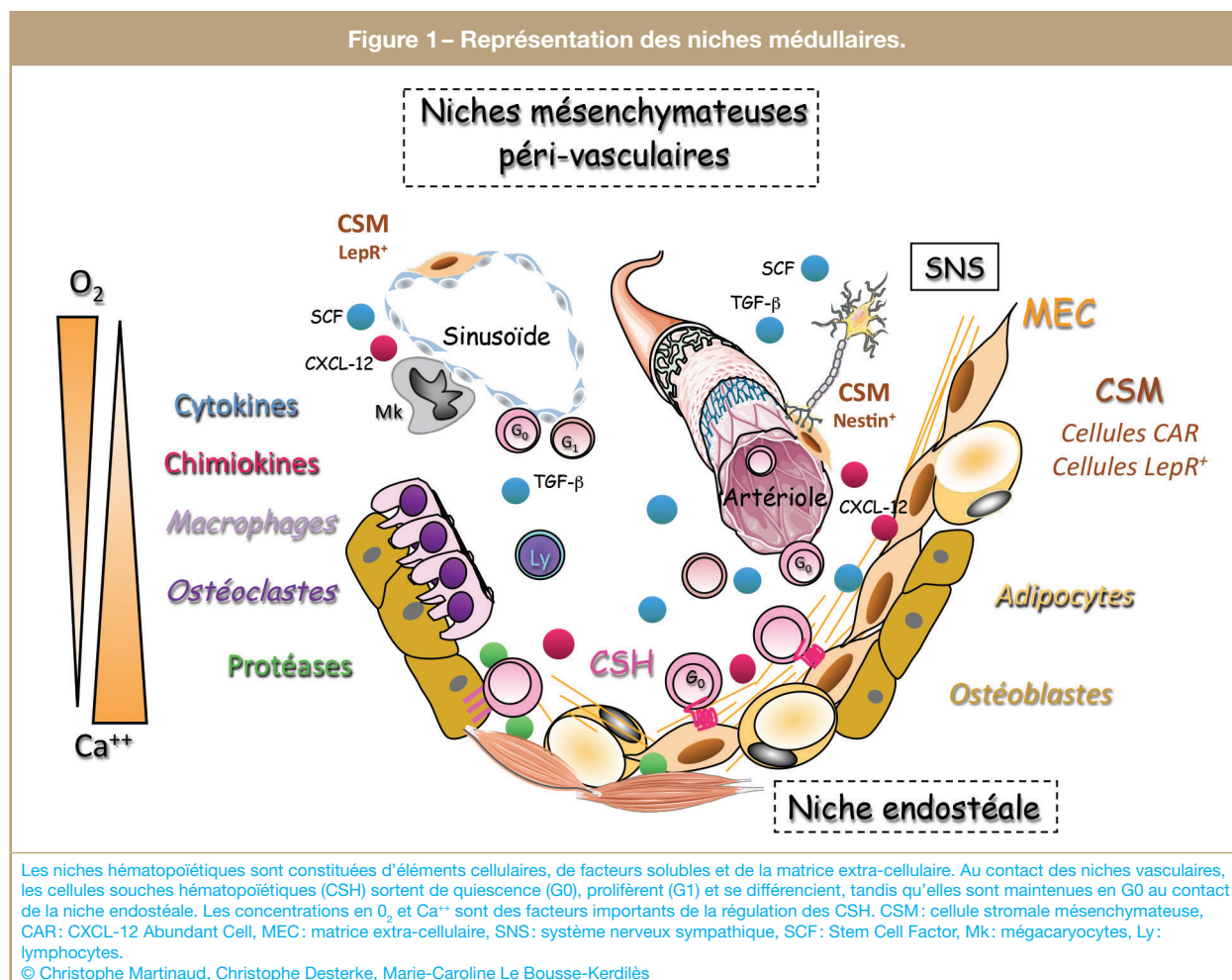
2.1. Des types de niches anatomiques et fonctionnelles différentes ?

Sur le plan anatomique et fonctionnel, deux grands types de niches correspondant à deux fonctions complémentaires ont été proposées : endostéales reliées à la quiescence et vasculaires ou mésenchymateuses péri-vasculaires reliées à l'auto-renouvellement/prolifération comme l'indique la notion récente de cellules stromales péri-vasculaires (figure 1).

2.1.1. La niche endostéale

La **niche endostéale** est historiquement la première décrite, mais de nombreuses questions demeurent quant à son implication réelle dans la régulation des CSH. La première évocation de la relation étroite entretenue entre l'os et l'hématopoïèse est ancienne : lors de greffe sous-cutanée de moelle osseuse, l'hématopoïèse ne se développe qu'après formation de l'os. Chez l'homme, au cours de l'embryogenèse, après avoir résidé au niveau de l'AGM, puis du foie et de la rate, l'hématopoïèse médullaire se développe ultérieurement à l'individualisation des ébauches osseuses. Anatomiquement, l'endoste constitue une interface entre l'os et la moelle : il est composé d'ostéoblastes mais aussi de cellules plus immatures, qui produisent de la matrice osseuse en équilibre avec les ostéoclastes, le résorbant. Ce lien étroit entre cellules ostéoblastiques et hématopoïèse repose également sur plusieurs données expérimentales. Ainsi, chez des souris n'exprimant pas le facteur de transcription Runx2, élément central de la différenciation ostéoblastique, non seulement la qualité de l'os est défectueuse, mais se développe une hématopoïèse extra-médullaire. Inversement, lorsque la quantité d'ostéoblastes augmente, le pool de CSH augmente aussi [5]. L'étude de l'inactivation des gènes séquentiellement impliqués dans la différenciation ostéoblastique a permis de préciser l'état de maturation ostéoblastique en rapport avec ce soutien de l'hématopoïèse et de désigner le pré-ostéoblaste comme la cellule clé de cet ensemble. L'expression, à leur surface, de la N-cadhérine (on les nomme alors « *Shaped N-Cadherin Osteoblasts* »), ainsi que la production de cytokines et de molécules essentielles à la régulation de l'hématopoïèse et du cycle cellulaire (Ostéopontine, Angiopoïétine 1 et Jagged 1), les désignent comme des cellules impliquées dans le maintien en quiescence des CSH [6]. Des données d'imagerie *in vivo* ont permis de confirmer ce lien étroit entre CSH et endoste. Cependant, malgré ces arguments, plusieurs limites ont été apportées au rôle unique de la niche endostéale dans la régulation des CSH ainsi que de la nature strictement cellulaire de cette niche. En effet, l'endosteum ne peut se réduire à l'ostéoblaste : il est composé en particulier d'une riche vascularisation et de cellules variées dont les pré-ostéoblastes, les cellules stromales mésenchymateuses (CSM), les ostéocytes ou les macrophages médullaires endostéaux (les ostéomacs) qui jouent également un rôle dans l'hématopoïèse, en particulier dans l'engagement des CSH vers la lymphopoïèse et la myélopoïèse.

Figure 1 – Représentation des niches médullaires.



2.1.2. La niche vasculaire

L'existence d'une **niche vasculaire** a été suspectée très tôt, à partir de l'observation chez la souris, à l'état physiologique et chez l'homme, au cours du développement embryonnaire, d'organes dépourvus d'ostéoblastes mais pouvant être le siège d'une hématopoïèse. En pathologie, la myélodysplasie primitive illustre parfaitement la possibilité d'une hématopoïèse extra-médullaire (dans la rate et le foie) chez l'homme adulte. Ces éléments ont contribué à établir l'existence de cellules de nature non ostéoblastique capables de soutenir l'hématopoïèse. L'origine embryologique des CSH à partir des hémangio-blastes, précurseurs communs des lignées endothéliales et hématopoïétiques, localisés dans les îlots sanguins du sac vitellin, a fourni le premier argument en faveur du lien entre cellules endothéliales et CSH. La riche vascularisation médullaire et ses relations intimes avec les structures osseuses ont fourni des arguments supplémentaires. Les capillaires médullaires contiennent des cellules qui expriment des protéines fortement impliquées dans la régulation des CSH comme la chimiokine CXCL12 et l'intégrine VCAM1. Chez la souris, l'analyse de la localisation des CSH a retrouvé plus de la moitié de celles-ci au contact de ces structures capillaires [7]. La co-culture de CSH avec des cellules endothéliales issues de l'AGM a également confirmé leur capacité à soutenir l'hématopoïèse.

De façon similaire, des cellules endothéliales murines exprimant Tie-2 possèdent également cette capacité et peuvent participer à l'auto-renouvellement des CSH [8]. L'ensemble de ces éléments est en faveur d'un rôle des cellules endothéliales des sinusoiides médullaires dans le maintien de l'hématopoïèse, et plus particulièrement dans l'auto-renouvellement/prolifération des CSH.

2.1.3. Les CSM péri-vasculaires

Poursuivant les observations de la niche vasculaire, une attention toute particulière a été portée sur les **CSM péri-vasculaires**. Parmi ces cellules, plusieurs types de CSM sont actuellement décrits sans que l'on sache vraiment si ces cellules représentent des populations très distinctes. Par exemple, chez la souris, la chimiokine CXCL12 est produite en grande quantité au niveau médullaire par les cellules d'aspect fibroblastique dont la localisation est endostéale mais surtout péri-vasculaire, en relation étroite avec les CSH. La déplétion de ces cellules au niveau médullaire a montré que leur invalidation s'accompagne d'une forte diminution du nombre de CSH, mais aussi des ostéoblastes. Ces cellules, nommées CAR pour « CXCL12 Abundant Reticular cells » co-localisent parfaitement avec les CSH [9]. Une autre population de CSM a été décrite au niveau péri-artériolaire par S. Mendez-Ferrer, comme étant associée aux CSH mais aussi aux fibres nerveuses du système sympathique. Ces CSM expriment fortement

la nestine, une protéine exprimée par les cellules d'origine nerveuse et sont impliquées dans le «homing» des CSH, comme l'atteste la forte diminution de la prise de greffe chez les souris dont les CSM n'expriment plus la nestine. Elles expriment également le NG2, un marqueur de cellules péricyaires [10]. Chez l'homme, les CSM exprimant le CD146, une molécule de surface associée au mélanome métastatique aussi appelée S-Endo-1, expriment également la nestine et CXCL12. Des travaux de l'équipe de S. Morrison ont montré que dans la moelle osseuse le SCF est principalement exprimé par les cellules stromales péri-vasculaires et que la délétion du SCF dans les CSH, les ostéoblastes et les CSM nestine⁺ n'avait pas d'effet sur le nombre de CSH médullaires [6]. Par contre, la déplétion du SCF au niveau des cellules endothéliales ou de cellules stromales péri-sinusoïdales exprimant le récepteur à la leptine (LepR) s'accompagnait d'une diminution du nombre de CSH. La double déplétion du SCF au niveau des cellules endothéliales et des cellules stromales LepR⁺ s'accompagnait même d'une disparition quasi totale des CSH médullaires. Ces cellules stromales péri-sinusoïdales LepR⁺ présentent des caractéristiques de CSM et produisent du CXCL12, ce qui les rapproche des cellules CAR [11]. Il a été récemment proposé que les niches péri-artériolaires participeraient au maintien en quiescence des CSH mais que les niches péri-sinusoïdales permettraient également leur prolifération [12], soulignant l'importance des niches mésenchymateuses péri-vasculaires dans la régulation des CSH.

Enfin, le système nerveux sympathique participe à la régulation de ces niches en agissant sur la prolifération, la mobilisation des CSH, l'oxygénation et la rhéologie sanguine via la modulation du calibre des vaisseaux.

2.2. Autres composants cellulaires des niches hématopoïétiques

D'autres types cellulaires sont également impliqués dans la régulation des CSH au sein des niches médullaires. Parmi ces cellules, citons les adipocytes, d'origine mésenchymateuse, qui semblent exercer une action inhibitrice (mais controversée) sur l'hématopoïèse, mais également des cellules d'origine hématopoïétiques telles que les ostéoclastes, les macrophages et les mégacaryocytes. Les ostéoclastes agissent par l'intermédiaire de la résorption de l'os qui libère des facteurs de croissance comme TGF- β 1 ou BMP-2, cytokines impliquées dans la quiescence des CSH et la régulation de la balance ostéoblastique. Ainsi, les souris sans ostéoclastes présentent une diminution des capacités de différenciation ostéoblastique et du «nichage» des CSH. Les macrophages de l'endosteum, proches des ostéoblastes (les ostéomacs), semblent également participer à la régulation de la niche endostéale comme le montre l'inactivation de ces cellules qui provoque une diminution du nombre d'ostéoblastes ainsi qu'une baisse des concentrations en CXCL12 [13]. Enfin, très récemment, les mégacaryocytes ont émergé comme des constituants agissant activement sur la balance quiescence-prolifération des CSH via la production de facteurs de croissance tels que le TGF- β 1, le CXCL4/PF4 et le FGF1 [14].

Un autre élément essentiel de la niche est le système immunitaire, en particulier les lymphocytes T-régulateurs,

garant de la tolérance immunitaire des CSH au sein de la moelle. La moelle osseuse en contient une concentration supérieure à celle des organes lymphoïdes secondaires [15]. La greffe de CSH à des souris non irradiées est possible, tant en syngénique qu'en allogénique, et la quasi-totalité des cellules greffées se localisent à la surface endostéale. Cette «tolérance» serait en rapport, non pas avec une ignorance immunitaire mais, avec une régulation active par les T-régulateurs, qui pourraient ainsi participer à l'existence d'une niche immunologique favorisant la survie des CSH, normales ou pathologiques.

Le microenvironnement cellulaire est donc un ensemble anatomique, fonctionnel, voire «temporel», dont la composition et l'organisation sont de mieux en mieux connues. Cependant, la structuration en différentes niches reste artificielle et la notion de l'existence d'un continuum spatio-temporel au niveau du microenvironnement médullaire est très vraisemblablement à intégrer.

2.3. La composante acellulaire du microenvironnement

La composante acellulaire du microenvironnement est représentée par des éléments matriciels et non matriciels. Parmi ces derniers, le calcium et l'oxygène occupent une place essentielle dans la régulation de l'hématopoïèse. La concentration en oxygène a été suspectée très tôt comme un élément clé de cette régulation. Dans la moelle osseuse, il a été rapporté que la concentration en oxygène variait selon un gradient qui diminue rapidement lorsque l'on s'éloigne des sinus. Cependant, compte tenu des difficultés techniques pour quantifier les concentrations en oxygène *in vivo*, ainsi que l'absence de concordance totale entre la vascularisation murine et humaine, le gradient d'oxygène et son rôle précis de ce facteur primordial sont toujours débattus. L'endoste, zone de remodelage osseux sous l'influence du couple ostéoblaste-ostéoclaste, présente un taux de calcium extracellulaire très élevé et les CSH possèdent un récepteur transmembranaire au calcium (*Calcium-sensing Receptor*) qui semble impliqué dans leur «nichage» médullaire. Le rôle et la régulation du calcium au cours de l'hématopoïèse physiologique et pathologique ne sont qu'imparfaitement connus. Sur le plan matriciel, La MEC est composée d'éléments fibrillaires, de protéines, aux fonctions structurales ou d'adhésion, et de polysaccharides possédant de longues chaînes de glycosaminoglycanes (GAG) associés habituellement aux protéines pour former les protéoglycanes. Les fibres de collagène I et de réticuline sont rares, nettement moins abondantes dans la moelle osseuse que dans les autres organes hématopoïétiques et presque exclusivement situées dans les zones péri-vasculaires des gros vaisseaux. Le collagène IV, synthétisé par les cellules endothéliales, est le composant majeur des membranes basales bordant la face externe de l'endothélium des cellules endothéliales. Le réseau de fibres dites de réticuline correspond à des glycoprotéines associées aux fibrilles de collagène III. Ce réseau renferme les cellules hématopoïétiques bordant les sinus et encerclant les adipocytes. Les GAGs ont des capacités de barrières, de réservoir à cytokines modulant ainsi leur disponibilité locale et de liaison à des protéines structurales comme la fibronectine et la thrombospondine, un des acteurs

principaux de l'activation du TGF- β 1 [16]. La MEC peut ainsi lier de nombreux facteurs de croissance, et réguler leur concentration locale, jouant un rôle important dans le développement et la régulation de la différenciation cellulaire.

3. L'histoire d'un stroma pas si passif que ça : la preuve du concept dans les hémopathies

Considérant le rôle du microenvironnement dans l'hématopoïèse, l'hypothèse de sa participation à la dérégulation des CSH est proposée depuis plusieurs années. Un nombre croissant d'exemples démontre l'importance de ce microenvironnement dans la physiopathologie des hémopathies.

3.1. Importance du microenvironnement

3.1.1. Les modèles murins

Dans les modèles murins, les démonstrations de ce concept sont nombreuses. Ainsi, il a été montré que les cellules possédant la mutation MLL-AF9 - anomalie cytogénétique récurrente dans certaines leucémies et conduisant à la présence d'un transcrite de fusion permettant un suivi en biologie moléculaire - transplantées chez des souris immunodéficientes peuvent être à l'origine de leucémies aiguës. Ces dernières sont soit myéloïdes, soit lymphoïdes ou bien encore bi-phénotypiques, en fonction du microenvironnement receveur, démontrant l'influence du stroma sur l'évolution d'un clone leucémique [17]. L'influence du stroma est aussi démontrée dans le modèle basé sur la délétion de *PTEN* : lorsque le gène est inactivé dans les CSH et dans le microenvironnement on observe une hémopathie de type NMP pouvant évoluer en leucémie aiguë. Mais, si la délétion n'est présente que dans les CSH et non dans le microenvironnement, on observe une déplétion en CSH sans transformation en NMP [18]. Ces résultats suggèrent que la mutation de la CSH seule n'est pas suffisante à l'induction d'une leucémie. De la même manière, l'activation de NF-KB dans des cellules myéloïdes en l'absence de son inhibiteur IKB n'est pas suffisante pour provoquer une hyperplasie granuleuse, mais cette même combinaison dans le microenvironnement hépatique fœtal provoque un syndrome myélodysplasique progressant vers une leucémie [19]. Toujours chez la souris, Walkley *et al.* ont montré que l'inactivation de la protéine du rétinoblastome ou du récepteur gamma pour l'acide rétinoïque dans le microenvironnement médullaire peut contribuer à elle seule au développement d'un NMP [20,21]. Ces résultats montrent la relation critique qu'il existe entre la CSH pathologique et son environnement et souligne l'influence que ce dernier peut avoir sur le développement du clone pathologique. La mutation peut aussi survenir au niveau des gènes impliqués dans la régulation épigénétique, et particulièrement dans la voie de synthèse des micro-ARN. Chez la souris, en cas d'inactivation de *Dicer1* restreinte aux ostéoblastes, on observe des anomalies cytologiques compatibles avec un syndrome myélodysplasique, et, chez certains animaux, cette dysplasie est capable d'évoluer en leucémie [22]. Ceci démontre que la perturbation de la niche

seule peut être à l'origine de l'acquisition d'anomalies de la CSH ou de l'émergence de clones préexistants pouvant, au final, provoquer une hémopathie maligne. Enfin, Tripodo *et al.* ont montré que des altérations de l'expression d'une protéine de la MEC, l'Ostéonectine, par les CSM pouvait être à l'origine du développement d'un NMP [23].

Au total, les études menées chez la souris montrent indiscutablement que le microenvironnement intervient dans la physiopathologie des hémopathies et que, dans certaines conditions, il peut même initier le développement d'un clone hématopoïétique pathologique.

3.1.2. Pathologie humaine

En pathologie humaine, bien que l'hypothèse du « *Seed and Soil* » dans la dissémination métastatique ait été proposée par S. Paget dès la fin du XIX^e siècle [24], les arguments témoignant de l'implication du microenvironnement dans la physiopathologie des hémopathies sont beaucoup plus récents et bien moins nombreux pour permettre une analogie avec les modèles murins. Le premier résultat de l'observation des malades ayant bénéficié d'une allogreffe de moelle en raison d'une leucémie myéloïde chronique et chez qui ont été diagnostiquées des rechutes avec un clone leucémique provenant des cellules du donneur, suggérant fortement l'implication du microenvironnement pathologique du receveur dans le développement de la leucémie secondaire [25]. Au cours des leucémies aiguës myéloïdes ou des syndromes myélodysplasiques (SMD), des anomalies génétiques ont pu être mises en évidence dans les CSM des malades par cytogénétique conventionnelle ; mais ces anomalies ne correspondaient jamais à celles présentes dans les CSH issues des mêmes malades [26]. Les CSM de malades souffrant d'un SMD favorisent la prise de greffe, chez les souris immunodéprimées, des CSH issues de ces mêmes malades. Ces CSM présentent un transcriptome spécifique par rapport à celui des CSM contrôles et, de façon intéressante, les CSH de malades sont capables d'induire, en co-cultures avec des CSM contrôles, des modifications de l'expression génique de ces CSM saines comparables à celles identifiées dans le transcriptome des CSM issues de malades. Ces constatations sont en faveur d'une possible reprogrammation des CSM par les CSH issues du clone pathologique [27]. Enfin, Kode *et al.* ont montré qu'une mutation activatrice de la β -caténine dans les ostéoblastes modifie le potentiel de différenciation des progéniteurs myéloïdes et lymphoïdes et peut conduire au développement d'une leucémie aiguë. Chez environ 40 % des malades avec un SMD ou une LAM, ils ont pu mettre en évidence une augmentation de la signalisation β -caténine au niveau des ostéoblastes de ces malades [28].

L'ensemble de ces résultats est donc en faveur de l'existence, chez les patients atteints d'hémopathies malignes, d'un stroma pathologique capable de promouvoir ou de favoriser l'émergence du/des clone(s) pathologique(s). Il faut noter cependant qu'il n'existe pas, pour le moment, d'arguments en faveur de la clonalité du microenvironnement. La présence d'anomalies cytogénétiques dans les CSM est actuellement remise en question compte tenu du rôle potentiellement inducteur des cultures nécessaires à leur expansion. Des études réalisées sur des cellules triées

semblent donc indispensables pour confirmer/infirmar la présence de telles anomalies et/ou en identifier d'autres. Le deuxième point de discussion réside dans la chronologie d'apparition des anomalies présentées par les CSM au cours des hémopathies. Il n'existe pas actuellement d'argument permettant d'affirmer que ces anomalies ne préexistent pas au développement du clone hématopoïétique pathologique, et les preuves que des altérations intrinsèques des CSM au cours des hémopathies sont réactionnelles au clone hématopoïétique pathologique sont rares en dehors du modèle murin.

3.2. Néoplasies myéloprolifératives

3.2.1. Au cours des néoplasmes myéloprolifératifs

Dans ces hémopathies, l'architecture médullaire est profondément remaniée, suggérant une modification importante des différentes niches. Une tendance commune observée dans la MFP, une partie des PV et dans une moindre proportion dans la TE, est l'évolution vers la fibrose médullaire et l'ostéosclérose. Il existe des preuves que le clone pathologique peut modifier le microenvironnement pour prendre l'avantage sur l'hématopoïèse physiologique. En effet, dans un modèle murin de NMP JAK2-muté, le groupe de S. Mendez-Ferrer a montré que le clone pathologique produit de l'interleukine 1-béta responsable de l'inhibition de la stimulation beta-adrénérique du système nerveux sympathique dont le résultat est une déplétion en CSM nestine⁺, provoquant une accélération de la pathologie [29].

3.2.2. Physiopathologie de la myélofibrose primitive

Depuis plusieurs années, notre laboratoire étudie la physiopathologie de la **myélofibrose primitive** (MFP) et en particulier les altérations du stroma et leurs rôles dans la pathogenèse de la maladie. Il est entendu que ces altérations sont multifactorielles résultant en une anomalie des fibroblastes/CSM provoquant une augmentation de la production de MEC et des modifications d'expression des protéines d'adhésion [30]. Il est décrit que ces modifications seraient secondaires au relargage dans le microenvironnement médullaire de facteurs de croissance par le clone pathologique et spécialement les mégacaryocytes anormaux et les monocytes [30]. La circulation pathognomonique des cellules CD34⁺ chez les malades atteints de MFP est très vraisemblablement le résultat de modifications de leurs propriétés d'adhérence au stroma, leur permettant d'échapper aux niches médullaires pour migrer vers celles, nouvellement créées ou réinitialisées, de la rate et du foie [30]. Plusieurs mécanismes incluant une perturbation de l'axe CXCR4-CXCL12 *via* une hyperméthylation du promoteur de CXCR4 et une augmentation des activités protéolytiques de la MEC, participent à cette migration [30]. Ainsi, il existe une maladie du dialogue entre les cellules hématopoïétiques et leur stroma. Activées les unes par les autres, les deux composantes acquièrent de nouvelles propriétés permettant le développement, voire l'émergence, et le maintien de la maladie et perturbant l'hématopoïèse physiologique. Dans la MFP, en réponse aux signaux cytokiniques, aux protéases, aux modifications très vraisemblables de l'hypoxie, un

déséquilibre se produit entre les niches endostéales et vasculaires. Ce déséquilibre favoriserait la prolifération et la mobilisation des cellules souches de la moelle osseuse vers le foie et la rate. En contribuant ainsi au développement des CSH pathologiques, le stroma devient un élément clé de la physiopathologie, illustrant le concept de «*bad seed in bad soil*» [31].

Une question clé dans l'exploration de ces interactions est celle de la dépendance des anomalies les unes des autres. Les modifications du stroma sont très vraisemblablement en rapport avec une stimulation cytokinique importante dont l'origine est majoritairement le clone pathologique. Une précision doit cependant être apportée sur la définition du terme «réactionnel» dans ce domaine. Un stroma est réactionnel lorsque les anomalies qu'il présente sont dépendantes de la stimulation par le clone hématopoïétique pathologique : en dehors de cette stimulation, ses propriétés redeviennent comparables à celle d'un stroma dépourvu de CSH pathologiques. Par opposition, un stroma non réactionnel est un stroma dont les anomalies sont maintenues malgré l'arrêt de l'exposition au clone pathologique. Les altérations ainsi acquises peuvent être, ou non, secondaires aux interactions avec les CSM pathologiques. Ainsi, au cours la MFP, il existe des arguments supportant le concept d'une évolution du stroma pathologique vers cette indépendance [27]. Une partie de ces arguments résident dans la critique des données assénant comme indubitable le caractère purement réactionnel du stroma. Premièrement, les approches cytogénétiques de la clonalité du microenvironnement dans la MFP sont anciennes, et, dans ces études, les critères de sélection de cellules stromales étaient principalement basés sur le caractère adhérent de ces cellules. Ce critère unique ne permet pas de définir les CSM : ces conclusions sont donc à restreindre au compartiment fibroblastique. De plus, ces études affirmaient l'absence de clonalité en se basant sur la cytogénétique conventionnelle, éventuellement complétée par un examen en FISH. Aucune autre mutation n'était recherchée. Par exemple, Wang *et al.*, en 1992, comparent des fibroblastes de sujets sains à ceux issus de malades : en l'absence d'anomalies cytogénétiques, ils concluent à l'absence de clonalité des cellules stromales dans la MFP [32]. Enfin, l'acquisition des mutations est séquentielle : dans les NMP où les CSH sont mutées pour Jak2, il existe des sous-clones avec et sans des mutations de *TET2*, parfois même les mutations de *TET2* précèdent celles de *JAK2*. De plus, dans certains clones, les anomalies mutationnelles sont plus ou moins imbriquées dans les anomalies cytogénétiques comme c'est le cas avec *ASXL1* et les délétions 20q- [33]. Il faut donc rester prudent quant aux conclusions de ces études. Au-delà de l'aspect technique et du mode de sélection des cellules stromales, les études démontrant le caractère non clonal des cellules du stroma médullaire ne se sont intéressées qu'aux fibroblastes médullaires. Or, on ne peut considérer ces cellules comme les seuls supports du microenvironnement hématopoïétique, ni comme les seuls médiateurs de la fibrose. Les données actuelles sur la composition des niches hématopoïétiques confirment que celles-ci ne sont pas uniquement composées des cellules fibroblastiques. Il faut égale-

ment considérer les CSM, les cellules endothéliales, les progéniteurs endothéliaux, les adipocytes, les ostéoblastes, les macrophages et peut-être d'autres encore... En ce qui concerne les cellules endothéliales, dans la MFP, Rosti *et al.* ont rapporté que celles formant la paroi des micro-vaisseaux de la rate pouvaient être génétiquement reliés au clone myéloprolifératif [34]. Cette observation coïncide avec des observations similaires sur les cellules endothéliales tapissant les capillaires hépatiques dans la PV. Encore plus intrigant, il a été rapporté que les progéniteurs endothéliaux peuvent porter la mutation *JAK2V617F* et présenter des capacités accrues d'adhésion aux cellules mononucléées. Ces données suggèrent que certains des composants majeurs de la niche pourraient présenter des anomalies génétiques récurrentes [35], ce qui est d'autant plus important que la néoangiogenèse est un élément physiopathologique important des NMP. Par ailleurs, il existe une corrélation entre l'augmentation des micro-vaisseaux et la fibrose, et leurs cellules de soutien, les péricytes, seraient, elles-aussi, anormales. Jusqu'à récemment, aucune anomalie cytogénétique récurrente n'avait été rapportée dans les CSM de patients atteints de MFP. Avanzini *et al.* ont montré que, bien que possédant des capacités normales de prolifération ou de support de l'hématopoïèse, ces CSM peuvent présenter, dès la fin du premier passage en culture, des anomalies de nombre et de structure des chromosomes qu'elles conservent par la suite. De plus, ces CSM sont caractérisées par une altération de leur capacité de différenciation ostéoblastique (DOB), dans le sens d'une diminution de leur potentiel ostéogénique. Bien qu'intéressants, ces résultats sont surprenants dans la mesure où la MFP est caractérisée par une augmentation de l'ossification (ostéogenèse) [36]. La question de l'acquisition *in vitro* des aberrations chromosomiques ne pourra être tranchée que sur des populations triées et en l'absence d'étapes de mise en culture.

Un autre élément à considérer est celui de la corrélation entre les taux élevés de cytokines ou de facteurs de croissance et la fibrose. Le TGF- β 1 est considéré comme le plus puissant inducteur de fibrose médullaire et est essentiel au développement de la fibrose dans le modèle murin de MFP [37]. Cependant, chez les malades atteints de NMP et présentant une fibrose médullaire, les niveaux d'expression des ARNm de TGF- β 1 sont variables : ils sont souvent augmentés mais peuvent être normaux [38]. À l'inverse, des concentrations plasmatiques identiques, et élevées, de TGF- β 1 actif peuvent être mesurées chez des malades atteints NMP, qu'il y ait une fibrose ou non [30]. Si la fibrose médullaire est uniquement causée par des cytokines et des facteurs de croissance produits par les cellules du clone pathologique, pourquoi n'y a-t-il pas de fibrose ailleurs que dans la moelle, dans la rate ou le foie ? Ce point mériterait d'être mieux exploré. Enfin, si la fibrose médullaire régresse parfois sous traitement spécifique du clone pathologique ou au cours de l'utilisation de composés bloquant l'action des facteurs pro-fibrotiques, cette diminution n'est ni constante, ni rapide, ni totale. En effet, après une greffe allogénique, la fibrose médullaire observée décroît en environ un an, mais sans pour autant disparaître. De plus, tous les malades ne se comportent

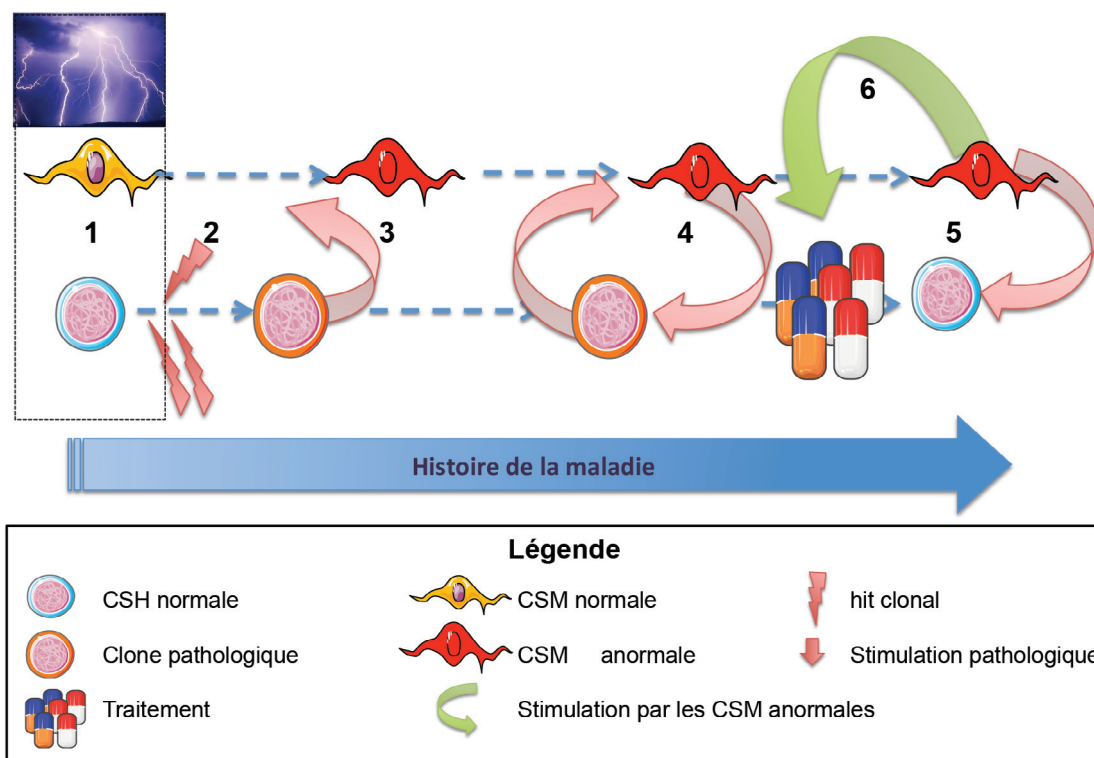
pas de cette manière, certains ne connaissent aucune amélioration de la fibrose, même 2 ans après la greffe, caractérisant les malades non répondeurs [39]. Encore plus étonnant, la diminution de la fibrose observée n'est pas corrélée avec celle des mégacaryocytes, source principale des cytokines pro-fibrotiques dans la maladie [40]. On ne peut cependant pas exclure une participation de la réaction du greffon contre l'hôte dans ces manifestations fibrotiques médullaires persistantes ni celles des monocytes comme le montrent les résultats d'essais cliniques de phase 2 avec du PRM-151 (Pentraxine-2), une molécule inhibitrice de la différenciation monocyttaire en fibrocytes [41]. Concernant l'ostéosclérose, les résultats sont plus homogènes : aucune amélioration de celle-ci n'est observée. Les résultats avec les traitements les plus récents comme le panobinostat, un inhibiteur des histones déacétylases (HDAC), sont encore parcellaires. Dans un essai de phase 1 chez une douzaine de patients, l'évaluation médullaire des 5 patients ayant bénéficié d'une cure complète n'a montré aucun changement ni de la cellularité ni de la fibrose médullaire. Cependant, de façon intéressante, les deux patients ayant pu recevoir le traitement le plus longtemps ont vu leur fibrose médullaire subir une importante réduction, de grade 3 à 1 [42].

3.3. Quand le stroma s'enflamme...

Des travaux récemment menés dans notre laboratoire ont permis d'étudier des CSM isolées de la moelle de patients atteints de MFP avant traitement et de réaliser une caractérisation « complète » de ces cellules : prolifération, phénotype, soutien de l'hématopoïèse, sécrétome, transcriptome, miRNome et capacités de différenciation. Les résultats ont permis de dégager un faisceau d'arguments en faveur d'une dérégulation de leur différenciation ostéoblastique sur les plans cytokinique, fonctionnel et moléculaire [27]. Les CSM de malades présenteraient un état de priming vers la lignée ostéoblastique, en rapport avec des anomalies de la signalisation TGF- β 1. De nombreux micro-ARN, dont certains sont connus pour être impliqués dans la différenciation ostéoblastique comme miR-210 ou dans le nichage des cellules souches hématopoïétiques comme miR-34a, sont dérégulés dans ces CSM. De plus, ces capacités altérées sont maintenues dans un modèle de greffe à des souris immunodéprimées, permettant d'observer, en l'absence de toutes cellules hématopoïétiques anormales, un maintien des anomalies ostéogéniques et en particulier, la formation d'une trame réticulinique augmentée, un des signes majeurs de l'histopathologie de la maladie. Ces données démontrent que les CSM des malades de MFP sont anormales et ce indépendamment de la stimulation par le clone hématopoïétique pathologique, suggérant la présence d'anomalies constitutives ou acquises. En l'absence de preuve d'une clonalité du stroma, l'origine épigénétique au maintien de ces altérations est possible [43].

L'inflammation chronique est un composant clé des néoplasies myéloprolifératives. L'origine de cette inflammation est encore imparfaitement comprise mais pourrait faire intervenir les récepteurs de type TLR. Au cours de la MFP, l'identification d'une signature inflammatoire spécifique, permet d'envisager son utilisation dans le

Figure 2– Proposition d'histoire naturelle de la myélofibrose primitive.



L'environnement inflammatoire médullaire constitue une « tempête cytokinique ». Cet environnement impacte les CSH et/ou les CSM (1). Des hits, promus ou favorisés par l'inflammation (2), provoquent l'émergence d'un clone pathologique, se différenciant en mégacaryocytes et en monocytes à l'origine de la production de cytokines inflammatoires (3). Ces cytokines pourraient modifier le microenvironnement médullaire, conduisant à une altération permanente de la niche (4). Les CSM normales pourraient influencer le clone pathologique et devenir, au cours du temps, définitivement modifiées par l'inflammation. Sous traitement, le clone pathologique est contenu (5), mais l'influence des CSM modifiées perdurerait (6). En l'absence de ciblage de ces CSM, elles poursuivraient leurs interactions avec les CSM et contribueraient aux rechutes de la maladie.

© Christophe Martinaud, Christophe Desterke, Marie-Caroline Le Bousse-Kerdilès

monitorage et l'évaluation pronostique de la maladie. Le rôle du TGF- β 1, produit à la fois par le clone pathologique et les CSM, est central au cours de la MFP. Cet environnement inflammatoire est particulièrement propice aux modifications épigénétiques, certaines médiées par le TGF- β 1, permettant de proposer de nouvelles pistes thérapeutiques [43] (figure 2).

4. En quoi et comment les altérations du stroma hématopoïétique peuvent-elles faire évoluer les applications thérapeutiques ?

Le modèle physiopathologique émergent des NPM et plus particulièrement de la PMF, permet de dégager plusieurs stratégies ciblant le microenvironnement en vue de :

1. inhiber la prolifération des CSH leucémiques qui sont maintenues dans la niche,
2. bloquer les signaux de survie médiés par la niche,
3. modifier l'adhésion et le « nichage » des CSH en interférant avec les cytokines et les molécules d'adhésion et,

4. inhiber les voies de signalisation anormalement activées au sein des niches.

Étant donné leur impact défavorable, cibler les cytokines profibrotiques pourrait ralentir la progression de la maladie. Le ruxolitinib ou le fedratinib permettent une réduction importante des taux plasmatiques de ces cytokines [44]. Concernant la fibrose médullaire, certains malades traités avec des inhibiteurs de JAK2 présentent une lente diminution de la fibrose : après 5 ans de traitement par ruxolitinib, un tiers des malades présentait une régression de cette fibrose [45]. Il faut noter cependant que cette réduction est modeste, non majoritaire et lente, démontrant que l'approche ciblant la voie des JAK n'est pas suffisante. L'action des anti-JAK2 sur le stroma doit passer par la réduction de l'impact des CSH pathologiques sur le microenvironnement, suggérant une relation bidirectionnelle entre les CSH et le microenvironnement.

Une approche possible serait d'ajouter des modificateurs épigénétiques comme les histones déacétylases (HDAC), des agents purement anti-fibrotiques ou des anticorps monoclonaux ciblant les protéines impliquées dans la fibrose tels que :

1. Le fresolimumab, un anticorps monoclonal capable d'antagoniser le TGF- β 1,
2. l'anticorps anti-LOXL-2, ciblant la lysyl oxydase-like2, une protéine impliquée dans le remodelage des tissus

fibreux et dont l'inhibition permet de réduire la signalisation TGF- β 1 dans un modèle murin,

3. le PRM-151, quant à lui, est un analogue de la pentraxin-2, une protéine anti-fibrotique, utilisée dans des essais cliniques sur des malades souffrant de fibrose pulmonaire et capable de réduire le nombre de fibrocytes produisant des cytokines fibrosantes.

Un essai clinique chez des malades atteints de MFP a montré son intérêt dans leur prise en charge [41]. L'impact des traitements HDAC semble également prometteur, certains malades voyant leur fibrose quasiment disparaître au cours du traitement. Des agents déméthylants comme la 5-azacytidine ont été également testés dans les NMP. Malgré les effets rencontrés dans les syndromes myélodysplasiques, les essais cliniques sur les NMP n'ont pas permis de mettre en évidence de gain significatif sur le plan clinique. Certains malades bénéficiant de ce traitement présentaient une diminution des taux de cellules CD34⁺ circulantes malgré l'absence de modification de l'expression de CXCR4 à leur surface [46]. Dans la MFP où le TGF- β 1 occupe une place importante, la modulation de son activation représente une piste encourageante. Une des voies d'activation de cette cytokine est mécanique. Les modifications de la MEC observées dans la MFP pourraient donc intervenir sur la biodisponibilité en TGF- β 1 par l'intermédiaire de contraintes structurelles différentes. Il est intéressant de noter que, chez les patients PMF, les mégacaryocytes adhèrent moins aux CSM pathologiques qu'aux CSM de sujets sains et que cette moindre dépendance est associée au réseau des tétraspanines et notamment au CD9, un marqueur corrélé au grade de fibrose. Le recrutement des intégrines dans la communication des cellules hématopoïétiques avec le stroma pourrait être altéré dans les domaines riches en tétraspanines et perturber ainsi l'adhésion des cellules ([47] et données non publiées). Des peptido-mimétiques pourraient être testés afin d'inhiber cette activation, comme cela est proposé en rhumatologie dans le traitement de l'ostéoporose. Un autre exemple est l'utilisation d'agonistes adrénergiques dans les NMP, pour restaurer la stimulation nerveuse sympathique déficiente. Si le nombre de cellules nestine⁺ a augmenté chez les malades traités,

et qu'une régression partielle de la myélofibrose a été observée, la diminution de la charge allélique JAK2 n'a pas été significativement réduite [6].

5. Conclusion : de la nécessité d'une approche globale intégrant les cellules souches dans leur environnement pour mieux comprendre et mieux traiter

En dehors des expériences menées chez la souris, il n'existe pas de preuve directe que des altérations somatiques du stroma puissent entraîner la survenue d'un NMP. Pour certaines maladies rares comme le syndrome de Shwachman-Diamond, des anomalies génétiques dans les cellules stromales contribuent très vraisemblablement aux anomalies de l'hématopoïèse. De telles preuves n'existent pas encore pour les NMP, mais des arguments émergent, tendant à démontrer que si les altérations du stroma peuvent avoir leur origine dans le clone pathologique, en particulier en rapport avec un environnement inflammatoire, la suppression du clone pathologique peut ne pas être suffisante pour restaurer un stroma physiologique. Ainsi, les anomalies acquises du stroma deviendraient indépendantes de la stimulation hématopoïétique, ne permettant pas de retrouver, malgré le traitement, une situation proche de la physiologie, mais peut-être même favorable à la ré-émergence de la maladie. Longtemps considérée comme une simple conséquence des anomalies de la CSH, l'altération du stroma devient maintenant un enjeu majeur dans la compréhension et le traitement des hémopathies. Les effets des nouvelles thérapeutiques sont parfois mal compris, probablement en rapport avec une compréhension incomplète des mécanismes en jeu. Seule une approche globale, basée sur des connaissances solides de la physiopathologie, peut permettre d'envisager une meilleure prise en charge des malades.

Liens d'intérêts : l'auteur déclare ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article.

Références

- [1] Faderl S, Talpaz M, Estrov Z, et al. The biology of chronic myeloid leukemia. *N Engl J Med* 1999;341:164–72. doi:10.1056/NEJM199907153410306.
- [2] James C, Ugo V, Le Couédic J-P, et al. A unique clonal JAK2 mutation leading to constitutive signalling causes polycythaemia vera. *Nature* 2005;434:1144–8. doi:10.1038/nature03546.
- [3] Barbui T, Thiele J, Gisslinger H, et al. The 2016 revision of WHO classification of myeloproliferative neoplasms: Clinical and molecular advances. *Blood Rev* 2016;30:453–9. doi:10.1016/j.blre.2016.06.001.
- [4] Schofield R. The relationship between the spleen colony-forming cell and the haematopoietic stem cell. *Blood Cells* 1978;4:7–25.
- [5] Deguchi K, Yagi H, Inada M, et al. Excessive extramedullary hematopoiesis in Cbfa1-deficient mice with a congenital lack of bone marrow. *Biochem Biophys Res Commun* 1999;255:352–9. doi:10.1006/bbrc.1999.0163.

- [6] Krause DS, Scadden DT. A hostel for the hostile: the bone marrow niche in hematologic neoplasms. *Haematologica* 2015;100:1376–87. doi:10.3324/haematol.2014.113852.
- [7] Kiel MJ, Yilmaz OH, Iwashita T, et al. SLAM family receptors distinguish hematopoietic stem and progenitor cells and reveal endothelial niches for stem cells. *Cell* 2005;121:1109–21. doi:10.1016/j.cell.2005.05.026.
- [8] Li W, Johnson SA, Shelley WC, et al. Hematopoietic stem cell repopulating ability can be maintained in vitro by some primary endothelial cells. *Exp Hematol* 2004;32:1226–37. doi:10.1016/j.exphem.2004.09.001.
- [9] Sugiyama T, Kohara H, Noda M, et al. Maintenance of the hematopoietic stem cell pool by CXCL12-CXCR4 chemokine signaling in bone marrow stromal cell niches. *Immunity* 2006;25:977–88. doi:10.1016/j.immuni.2006.10.016.
- [10] Méndez-Ferrer S, Michurina TV, Ferraro F, et al. Mesenchymal and haematopoietic stem cells form a unique bone marrow niche. *Nature* 2010;466:829–34. doi:10.1038/nature09262.

- [11] Ding L, Saunders TL, Enikolopov G, et al. Endothelial and perivascular cells maintain haematopoietic stem cells. *Nature* 2012;481:457–62. doi:10.1038/nature10783.
- [12] Day RB, Link DC. Megakaryocytes in the hematopoietic stem cell niche. *Nat Med* 2014;20:1233–4. doi:10.1038/nm.3745.
- [13] Winkler IG, Sims NA, Pettit AR, et al. Bone marrow macrophages maintain hematopoietic stem cell (HSC) niches and their depletion mobilizes HSCs. *Blood* 2010;116:4815–28. doi:10.1182/blood-2009-11-253534.
- [14] Bruns I, Lucas D, Pinho S, et al. Megakaryocytes regulate hematopoietic stem cell quiescence through CXCL4 secretion. *Nat Med* 2014;20:1315–20. doi:10.1038/nm.3707.
- [15] Zou L, Barnett B, Safah H, et al. Bone marrow is a reservoir for CD4+CD25+ regulatory T cells that traffic through CXCL12/CXCR4 signals. *Cancer Res* 2004;64:8451–5. doi:10.1158/0008-5472.CAN-04-1987.
- [16] Hurley RW, McCarthy JB, Verfaillie CM. Direct adhesion to bone marrow stroma via fibronectin receptors inhibits hematopoietic progenitor proliferation. *J Clin Invest* 1995;96:511–9. doi:10.1172/JCI118063.
- [17] Wei J, Wunderlich M, Fox C, et al. Microenvironment determines lineage fate in a human model of MLL-AF9 leukemia. *Cancer Cell* 2008;13:483–95. doi:10.1016/j.ccr.2008.04.020.
- [18] Yilmaz ÖH, Valdez R, Theisen BK, et al. Pten dependence distinguishes hematopoietic stem cells from leukaemia-initiating cells. *Nature* 2006;441:475–82. doi:10.1038/nature04703.
- [19] Rupec RA, Jundt F, Rebholz B, et al. Stroma-mediated dysregulation of myelopoiesis in mice lacking I κ B α . *Immunity* 2005;22:479–91.
- [20] Walkley CR, Olsen GH, Dworkin S, et al. A microenvironment-induced myeloproliferative syndrome caused by retinoic acid receptor gamma deficiency. *Cell* 2007;129:1097–110. doi:10.1016/j.cell.2007.05.014.
- [21] Walkley CR, Shea JM, Sims NA, et al. Rb regulates interactions between hematopoietic stem cells and their bone marrow microenvironment. *Cell* 2007;129:1081–95. doi:10.1016/j.cell.2007.03.055.
- [22] Santamaria C, Muntión S, Rosón B, et al. Impaired expression of DICER, DROSHA, SBDS and some microRNAs in mesenchymal stromal cells from myelodysplastic syndrome patients. *Haematologica* 2012;97:1218–24. doi:10.3324/haematol.2011.054437.
- [23] Tripodo C, Sangaletti S, Guarnotta C, et al. Stromal SPARC contributes to the detrimental fibrotic changes associated with myeloproliferation while its deficiency favors myeloid cell expansion. *Blood* 2012;119:39. doi:10.1182/blood-2011-12-398537.
- [24] Paget S. The distribution of secondary growths in cancer of the breast. *The Lancet* 1889;133:571–3. doi:10.1016/S0140-6736(00)49915-0.
- [25] Wiseman DH. Donor Cell Leukemia: A Review. *Biol Blood Marrow Transplant* 2011;17:771–89. doi:10.1016/j.bbmt.2010.10.010.
- [26] Blau O, Hofmann W-K, Baldus CD, et al. Chromosomal aberrations in bone marrow mesenchymal stroma cells from patients with myelodysplastic syndrome and acute myeloblastic leukemia. *Exp Hematol* 2007;35:221–9. doi:10.1016/j.exphem.2006.10.012.
- [27] Martinaud C, Desterke C, Konopacki J, et al. Osteogenic potential of mesenchymal stromal cells contributes to primary myelofibrosis. *Cancer Res* 2015;1–14. doi:10.1158/0008-5472.CAN-14-3696.
- [28] Kode A, Manavalan JS, Mosialou I, et al. Leukaemogenesis induced by an activating β -catenin mutation in osteoblasts. *Nature* 2014;506:240–4. doi:10.1038/nature12883.
- [29] Arranz L, Sánchez-Aguilera A, Martín-Pérez D, et al. Neuropathy of hematopoietic stem cell niche is essential for myeloproliferative neoplasms. *Nature* 2014;1–17. doi:10.1038/nature13383.
- [30] Lataillade J-J, Pierre-Louis O, Hasselbalch HC, et al. Does primary myelofibrosis involve a defective stem cell niche? From concept to evidence. *Blood* 2008;112:3026–35. doi:10.1182/blood-2008-06-158386.
- [31] Le Bousse-Kerdilès M-C. Primary myelofibrosis and the “bad seeds in bad soil” concept. *Fibrogenesis Tissue Repair* 2012;5:S20. doi:10.1186/1755-1536-5-S1-S20.
- [32] Wang JC, Lang HD, Lichter S, et al. Cytogenetic studies of bone marrow fibroblasts cultured from patients with myelofibrosis and myeloid metaplasia. *Br J Haematol* 1992;80:184–8.
- [33] Brecqueville M, Rey J, Devillier R, et al. Array comparative genomic hybridization and sequencing of 23 genes in 80 patients with myelofibrosis at chronic or acute phase (suppl data). *Haematologica* 2014;99:37–45. doi:10.3324/haematol.2013.091454.
- [34] Rosti V, Villani L, Riboni R, et al. Spleen endothelial cells from patients with myelofibrosis harbor the JAK2V617F mutation. *Blood* 2013;121:360–8. doi:10.1182/blood-2012-01-404889.
- [35] Boveri E, Passamonti F, Rumi E, et al. Bone marrow microvessel density in chronic myeloproliferative disorders: a study of 115 patients with clinicopathological and molecular correlations. *Br J Haematol* 2008;140:162–8. doi:10.1111/j.1365-2141.2007.06885.x.
- [36] Avanzini MA, Bernardo ME, Novara F, et al. Functional and genetic aberrations of in vitro-cultured marrow-derived mesenchymal stromal cells of patients with classical Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms 2014;1–3. doi:10.1038/leu.2014.97.
- [37] Schmitt A, Jouault H, Guichard J, et al. Pathologic interaction between megakaryocytes and polymorphonuclear leukocytes in myelofibrosis. *Blood* 2000;96:1342.
- [38] Bock O, Loch G, Schade U, et al. Osteosclerosis in advanced chronic idiopathic myelofibrosis is associated with endothelial overexpression of osteoprotegerin. *Br J Haematol* 2005;130:76–82.
- [39] Deeg HJ. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation for myelofibrosis. *Blood* 2003;102:3912–8. doi:10.1182/blood-2003-06-1856.
- [40] Thiele J, Kvasnicka HM, Dietrich H, et al. Dynamics of bone marrow changes in patients with chronic idiopathic myelofibrosis following allogeneic stem cell transplantation. *Histol Histopathol* 2005;20:879–89.
- [41] Verstovsek S, Mesa RA, Foltz LM, et al. PRM-151 in Myelofibrosis: Durable Efficacy and Safety at 72 Weeks. *Blood* 2015;126:56–56.
- [42] Mascarenhas J, Lu M, Li T, et al. A phase I study of panobinostat (LBH589) in patients with primary myelofibrosis (PMF) and post-polycythemia vera/essential thrombocythemia myelofibrosis (post-PV/ET MF). *Br J Haematol* 2013;161:68–75. doi:10.1111/bjh.12220.
- [43] Desterke C, Martinaud C, Ruzehaji N, et al. Inflammation as a Keystone of Bone Marrow Stroma Alterations in Primary Myelofibrosis. *Mediators Inflamm* 2015;2015:1–16. doi:10.1155/2015/957502.
- [44] Verstovsek S, Kantarjian HM, Estrov Z, et al. Long-term outcomes of 107 patients with myelofibrosis receiving JAK1/JAK2 inhibitor ruxolitinib: survival advantage in comparison to matched historical controls. *Blood* 2012;120:1202–9. doi:10.1182/blood-2012-02-414631.
- [45] Yacoub A, Odenike O, Verstovsek S. Ruxolitinib: Long-Term Management of Patients with Myelofibrosis and Future Directions in the Treatment of Myeloproliferative Neoplasms. *Curr Hematol Malig Rep* 2014;9:350–9. doi:10.1007/s11899-014-0229-y.
- [46] Wang X, Zhang W, Ishii T, Sozer S, Wang J, Xu M, et al. Correction of the Abnormal Trafficking of Primary Myelofibrosis CD34+ Cells by Treatment with Chromatin-Modifying Agents. *Cancer Res* 2009;69:7612–8. doi:10.1158/0008-5472.CAN-09-1823.
- [47] Desterke C, Martinaud C, Guerton B, Pieri L, Bogani C, Clay D, et al. Tetraspanin CD9 participates in dysmegakaryopoiesis and stromal interactions in primary myelofibrosis. *Haematologica* 2015;100:757–67. doi:10.3324/haematol.2014.118497.

Physiopathologie des syndromes myéloprolifératifs non LMC : quel rôle pour CALR muté ?

Damien Luque Paz^{a,*}, Valérie Ugo^{a,b}

RÉSUMÉ

La découverte des mutations de CALR en 2013 a été un événement important et surprenant dans l'histoire de la biologie des syndromes myéloprolifératifs. La protéine calréticuline mutée change de séquence et de fonction : la sublocalisation cellulaire de la protéine s'en trouve modifiée, elle devient capable d'activer le récepteur de la thrombopoïétine à la membrane et se comporte de fait comme une protéine du signal, activant les mêmes voies de signalisation que JAK2.

CALR - biomarqueurs moléculaires - myélofibrose primitive - signalisation - thrombocythémie essentielle.

1. Introduction

Après la découverte de la mutation V617F de JAK2 en 2005 et des mutations de MPL en 2006, la découverte des mutations de CALR en 2013 a représenté un nouveau scoop dans la physiopathologie des NMP. En effet, difficile de comprendre en quoi cette protéine ubiquitaire, impliquée dans de nombreuses fonctions support dans la cellule, pouvait être impliquée dans le développement d'un NMP. Deux articles récents ayant été publiés dans la revue faisant largement état des connaissances sur la physiopathologie des NMP, seules les dernières avancées seront abordées dans ce court chapitre [1,2].

2. Les mutations de CALR

Les mutations de CALR se situent au niveau de l'exon 9 du gène et sont toutes des insertions et/ou délétions avec décalage du cadre de lecture. Les plus fréquentes sont une délétion de 52 bp (mutation de type 1 ou CALRdel52) et une insertion de 5 bp (mutation de type 2 ou CALRins5), plus de 50 mutations différentes ont été décrites [3,4].

a Laboratoire d'Hématologie
b Institut de Biologie en Santé
Université d'Angers, INSERM CRCINA
CHU Angers
4 rue Larrey - 49000 Angers

* Correspondance
damien.luquepaz@chu-angers.fr

SUMMARY

Physiopathology of myeloproliferative neoplasms : how plays mutated CALR ?

The discovery of CALR mutations in 2013 was another break outstanding event in the field of myeloproliferative neoplasms. The mutated form of the protein calreticulin has a new peptidic sequence leading to new functions and to cellular sublocalization changes. The mutant CALR activates MPL at the membrane, so acting as a signaling molecule on JAK-STAT pathways.

CALR, molecular biomarkers, primary myelofibrosis, signalling, essential thrombocythemia.

Le gène CALR code pour la calréticuline, une protéine du réticulum endoplasmique qui joue le rôle de protéine chaperone et participe au contrôle du bon repliement des glycoprotéines nouvellement fabriquées, avec deux autres protéines, la calnexine et ERp57. La calnexine est une protéine transmembranaire alors que la calréticuline est soluble. Les récepteurs de cytokines comme R-EPO et MPL sont glycosylés sur asparagine et doivent passer ce « contrôle qualité » dépendant de la calréticuline et de la calnexine. La calréticuline joue également un rôle important dans l'homéostasie calcique *via* son domaine C-terminal chargé négativement, et un rôle immunologique dans l'apoptose et la réponse antitumorale, elle est dans ce cas présente à la membrane.

Toutes les mutations de CALR entraînent un décalage du cadre de lecture et aboutissent une protéine CALR qui perd son motif protéique KDEL carboxy-terminal (signal de rétention dans le réticulum endoplasmique) et présente une néo-séquence peptidique carboxy-terminale commune chargée positivement.

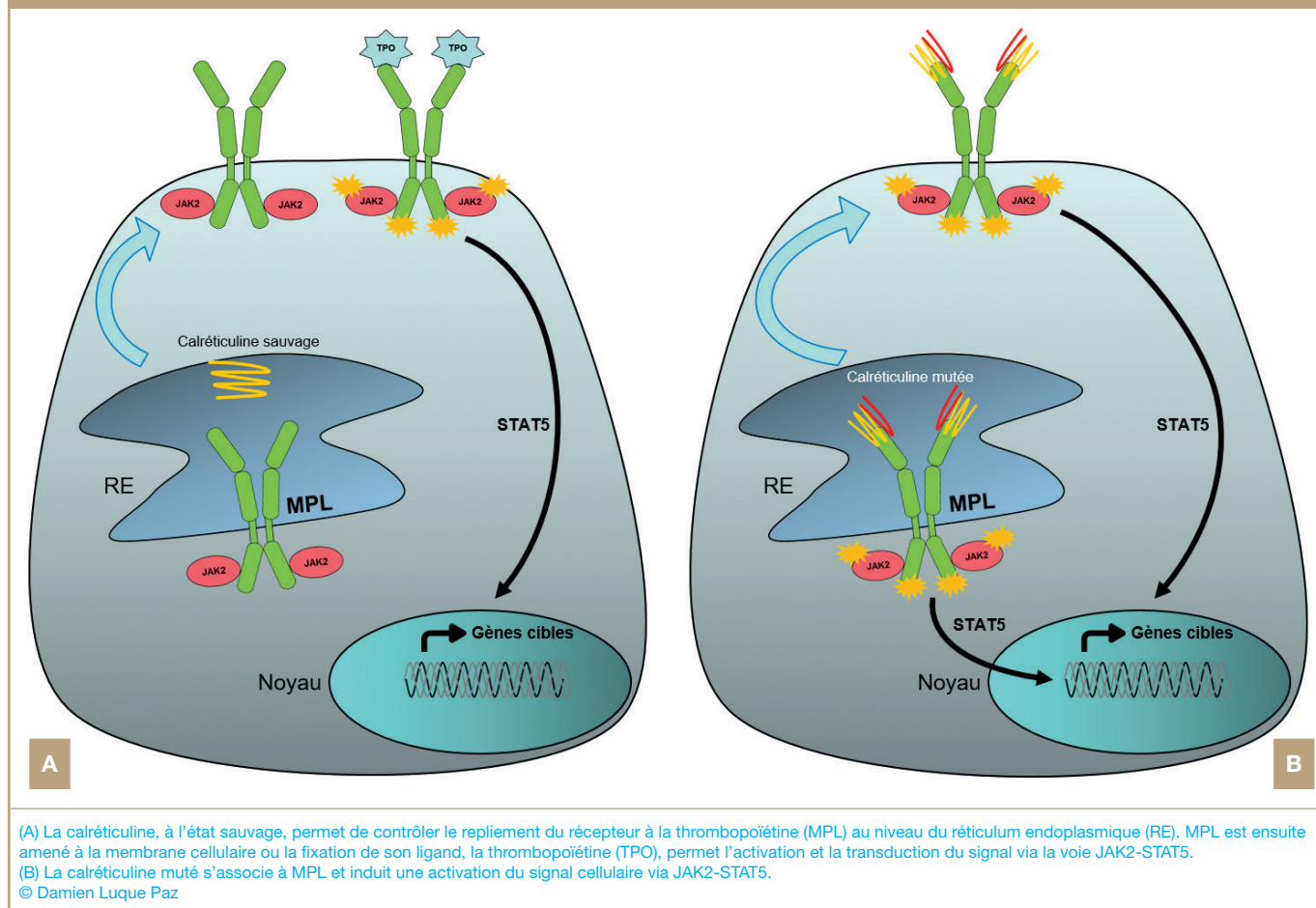
3. La calréticuline mutée : une néo-protéine de signalisation

Des modèles murins ont été générés prouvant la responsabilité de ces mutations dans le développement des NMP : des souris greffées avec de la moelle transduite avec un mutant CALRdel52 ou CALRins5 développent une thrombocythose, puis évoluent vers la myélofibrose pour le mutant CALRdel52. Le récepteur de la TPO est indispensable au phénotype induit par les mutants de CALR et les animaux invalidés pour MPL ne développent pas de thrombocythose [5]. Dans des lignées cellulaires,

article reçu le 25 janvier 2017, accepté le 17 février 2017.

© 2017 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

Figure 1 - Physiopathologie des mutations de CALR.



les mutants de CALR induisent une indépendance à la TPO et une activation de la voie JAK-STAT spécifiquement liée à la présence de MPL.

Il a été montré que la calréticuline mutée active spécifiquement et directement MPL. La localisation cellulaire de la calréticuline mutée diffère de la forme sauvage, elle se retrouve dans les vésicules, la forme sauvage étant elle retenue dans le réticulum. Le domaine extracellulaire du récepteur MPL et ses résidus N-glycosylés, mais aussi la kinase JAK2, sont indispensables à cette activation par la calréticuline mutée. L'interaction de la calréticuline avec le récepteur de la TPO est en fait renforcée par rapport à la protéine sauvage en raison de la présence du néo-peptide en C-terminal généré par la mutation de CALR. À partir de cellules primaires de patients CALR mutés, il a été montré que la pousse autonome des progéniteurs mégacaryocytaires est inhibée par des shRNA ciblant MPL ou JAK2 [6]. Le domaine N (globulaire) est responsable de la fixation de la calréticuline mutée à MPL qui n'est pas activée sur le site de fixation de la TPO. Enfin, il est important de noter que les mutants CALR n'activent pas d'autres récepteurs (sauf faiblement le récepteur du G-CSF, sans impact sur la prolifération cellulaire) et en particulier il n'y a pas d'activation de R-EPO [5-7].

Ainsi l'activité oncogénique des mutants de CALR est dépendante de la présence du récepteur de la thrombopoïétine (MPL) et *in fine* les mutations de la calréticuline

activent les mêmes voies cellulaires que les mutations de JAK2.

Une observation originale a été publiée récemment : dans les NMP il existe parfois un déficit acquis en myéloperoxydase. Les auteurs ont démontré que ce déficit ne se voyait qu'en cas de mutation homozygote de CALR et que c'est bien par un défaut de son rôle de protéine chaperonne : il n'y a pas de diminution de l'expression de l'ARNm de la myéloperoxydase mais une diminution de la protéine, ce qui évoque un effet post-transcriptionnel. *In vitro*, il a été mis en évidence une dégradation de la myéloperoxydase par le protéasome en l'absence de la calréticuline [8]. Un travail récent a montré que, à l'instar de la mutation JAK2 V617F, les mutations de CALR peuvent au cours de l'évolution de la maladie passer à l'état homozygote via une perte d'hétérozygotie du chromosome 19 [9].

4. Conclusion

Des études structurales complémentaires sont nécessaires pour comprendre les mécanismes intimes d'activation de MPL par les mutants CALR.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article.

Références

- [1] Besancenot R, Pasquier F, Giraudier S. Actualités 2011 sur la physiopathologie des syndromes myéloprolifératifs classiques hors LMC (polyglobulie de Vaquez, thrombocythémie essentielle et myélofibrose primaire). *Rev Francoph Lab*. 2011 Jun;2011(433):41–6.
- [2] Luque Paz D, Ugo V. Biologie des syndromes myéloprolifératifs : classifications diagnostiques et nouveaux marqueurs moléculaires. *Rev Francoph Lab*. 2015 Nov;2015(476):35–45.
- [3] Klampfl T, Gisslinger H, Harutyunyan AS, et al. Somatic Mutations of Calreticulin in Myeloproliferative Neoplasms. *N Engl J Med*. 2013 Dec 19;369(25):2379–90.
- [4] Nangalia J, Massie CE, Baxter EJ, et al. Somatic CALR Mutations in Myeloproliferative Neoplasms with Nonmutated JAK2. *N Engl J Med*. 2013 Dec 19;369(25):2391–405.
- [5] Marty C, Pecquet C, Nivarthi H, et al. Calreticulin mutants in mice induce an MPL-dependent thrombocytosis with frequent progression to myelofibrosis. *Blood*. 2016 Mar 10;127(10):1317–24.
- [6] Chachoua I, Pecquet C, El-Khoury M, et al. Thrombopoietin receptor activation by myeloproliferative neoplasm associated calreticulin mutants. *Blood* [Internet]. 2015 Dec 14 [cited 2015 Dec 18]; Available from: <http://www.bloodjournal.org/cgi/doi/10.1182/blood-2015-11-681932>
- [7] Nivarthi H, Chen D, Cleary C, et al. Thrombopoietin receptor is required for the oncogenic function of CALR mutants. *Leukemia*. 2016 Feb 17;[Epub ahead of print].
- [8] Theodorides APA, Lundberg P, Lakkaraju AKK, et al. Homozygous calreticulin mutations in patients with myelofibrosis lead to acquired myeloperoxidase deficiency. *Blood*. 2016 Jun 23;127(25):3253–9.
- [9] Martin S, Wright CM, Scott LM. Progenitor genotyping reveals a complex clonal architecture in a subset of CALR mutated myeloproliferative neoplasms. *Br J Haematol* [Internet]. 2017 Feb [cited 2017 Feb 26]; Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/bjh.14512>

Diagnostic anatomopathologique des néoplasies myéloprolifératives chroniques Ph-

Barbara Burroni ^{a,*}, Antoine Martin ^b, Marie-Christine Rousselet ^c

RÉSUMÉ

Dans les classifications de l'OMS des néoplasies myéloprolifératives, l'analyse d'une biopsie ostéo-médullaire est un examen de premier plan nécessaire au diagnostic et à l'évaluation du pronostic. L'entité «pré-fibrose», décrite depuis plusieurs années comme distincte de la myélofibrose primitive avec myélofibrose franche, fait son entrée dans la version la plus récente de ces classifications, publiée en 2016. La place de la biopsie dans le diagnostic de maladie de Vaquez est également renforcée. Des comités de relecture regroupant des hémato-pathologistes se mettent en place afin d'améliorer la reproductibilité des critères histologiques.

Biopsie ostéo-médullaire - fibrose - maladie de Vaquez - myélofibrose primitive - pronostic - thrombocythémie essentielle.

1. Introduction

Depuis la classification de l'OMS 2008 [1], l'analyse d'une biopsie de la moelle osseuse (BOM) idéalement obtenue avant traitement, est nécessaire au diagnostic des néoplasies myélorolifératives (NMP). En 2008, la BOM est l'un des critères majeurs du diagnostic des thrombocythémies essentielles (TE) et des myélofibroses primitives (MFP), et n'intervient que comme critère mineur pour la polyglobulie de Vaquez (PV). Avec la révision de l'OMS 2016 des critères diagnostiques, l'entité «pré-fibrose» a été distinguée de la myélofibrose primitive avec myélofibrose franche, et la place de la biopsie dans le diagnostic de PV renforcée [2]. La biopsie doit être une carotte d'os spongieux prélevée à angle droit de l'os cortical, de taille suffisante (≥ 1 cm ou mieux $\geq 1,5$ cm) non fragmentée et sans artefact d'écrasement [3,4]. Les paramètres histologiques à évaluer sont la cellularité hématopoïétique (normale, augmentée ou diminuée par rapport à l'âge), le rapport leuco-érythroblastique

a Service de Pathologie,
Hôpital Cochin,
27, rue du Faubourg St Jacques
75014 Paris

b Service de Pathologie,
Hôpital Avicenne, HUPSSD, Université Paris 13, Bobigny

c Département de Pathologie Cellulaire et Tissulaire,
Institut de Biologie en Santé, CHU d'Angers, 49933 Angers

* Correspondance
barbara.burroni@aphp.fr

article reçu le 25 janvier 2017, accepté le 17 février 2017.

© 2017 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

SUMMARY

Histopathological diagnosis of myeloproliferative neoplasia Ph-

In WHO classifications of myeloproliferative neoplasms, a bone marrow biopsy at diagnosis is mandatory in almost all cases to classify the disease as well as to evaluate the prognosis. The "pre-fibrotic" form, which has been described for several years as distinct from primary myelofibrosis with overt myelofibrosis, is included in the most recent version of these classifications published in 2016. The importance of the biopsy in the diagnosis of polycythemia vera is also growing. Re-evaluation committees bringing together hematopathologists are set up to improve the reproducibility of these histological criteria.

Bone marrow biopsy - fibrosis - prognosis - polycythemia vera - primary myelofibrosis - essential thrombocythemia.

(normal 3:1, augmenté ou diminué), la morphologie et la topographie des mégacaryocytes, la présence et l'intensité d'une fibrose médullaire évaluée par une coloration argentique de la réticuline en 4 grades (*tableau I*) [2,3]. La qualité et la reproductibilité de la coloration argentique sont fondamentales et une coloration du collagène de type trichrome de Masson est recommandée dès lors que la fibrose dépasse le grade 1 [4]. Une immunohisto-chimie pour estimer la quantité de blastes CD34 positifs peut être utile.

Tableau I : Grading de la fibrose médullaire selon le consensus européen [3], adopté par la révision de l'OMS 2016 [2]

Grade	Description (la densité des fibres de réticuline est évaluée dans les zones d'hématopoïèse)
MF0	Quelques fibres dispersées, linéaires, sans intersections, correspondant à une trame médullaire normale
MF1	Réseau lâche de fibres de réticuline avec des intersections, en particulier autour des vaisseaux
MF2	Trame de réticuline diffuse et dense, avec de très nombreuses intersections, occasionnellement avec foyers limités de collagène et/ou ostéosclérose focale
MF3	Trame de réticuline diffuse et dense, avec de très nombreuses intersections et des faisceaux épais de collagène, souvent associés à une ostéosclérose

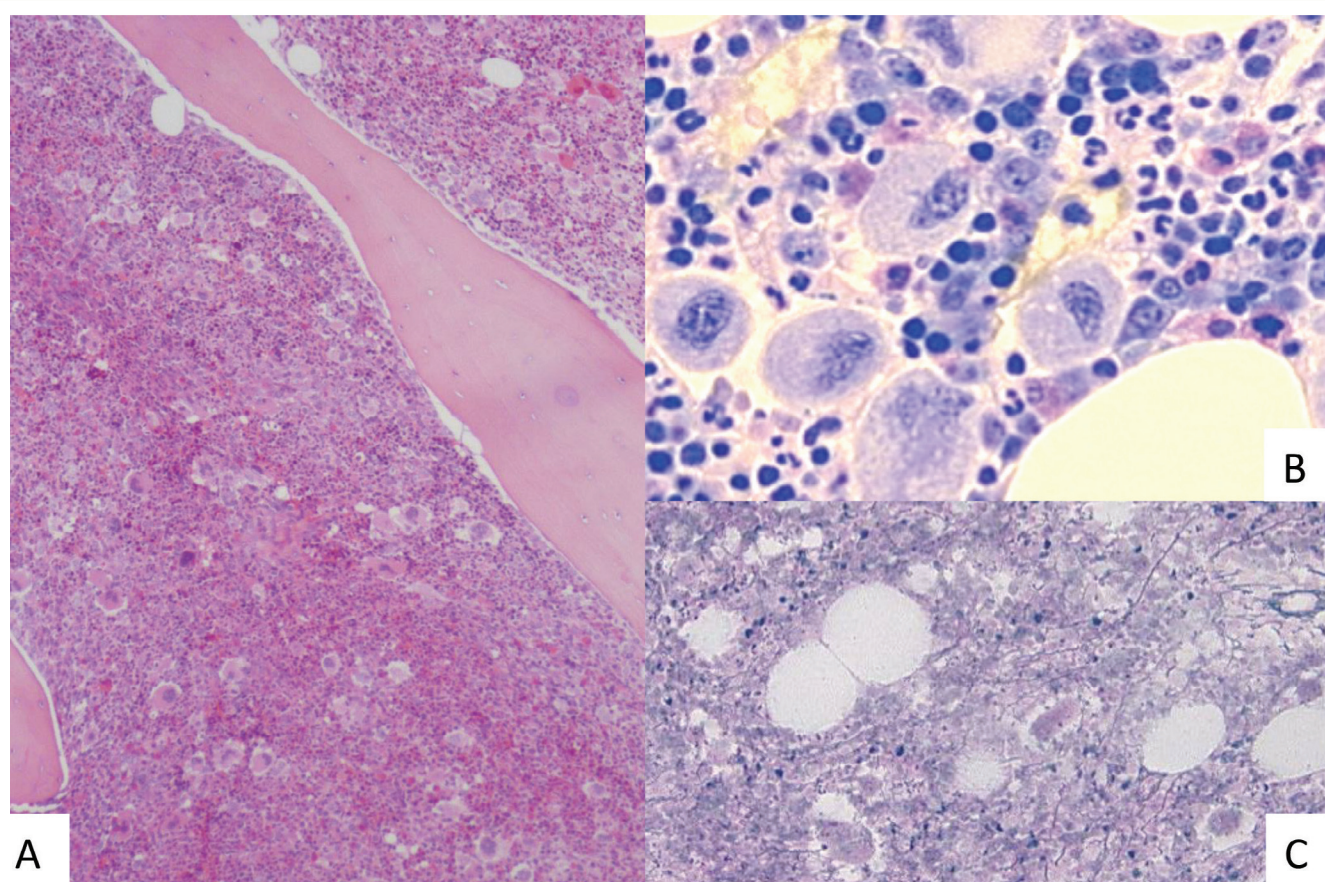
1. Introduction

Depuis la classification de l'OMS 2008 [1], l'analyse d'une biopsie de la moelle osseuse (BOM) idéalement obtenue avant traitement, est nécessaire au diagnostic des néoplasies myélorolifératives (NMP). En 2008, la BOM est l'un des critères majeurs du diagnostic des thrombocythémie essentielle (TE) et des myélofibrose primitive (MFP), et n'intervient que comme critère mineur pour la polyglobulie de Vaquez (PV). Avec la révision de l'OMS 2016 des critères diagnostiques, l'entité « pré-fibrose » a été distinguée de la myélofibrose primitive avec myélofibrose franche, et la place de la biopsie dans le diagnostic de PV renforcée [2]. La biopsie doit être une carotte d'os spongieux prélevée à angle droit de l'os cortical, de taille suffisante (≥ 1 cm ou mieux $\geq 1,5$ cm) non fragmentée et sans artefact d'écrasement [3,4]. Les paramètres histologiques à évaluer sont la cellularité hématopoïétique (normale, augmentée ou diminuée par rapport à l'âge), le rapport leuco-érythroblastique (normal 3:1, augmenté ou diminué), la morphologie et la topographie des mégacaryocytes, la présence et l'intensité d'une fibrose médullaire évaluée par une coloration

argentique de la réticuline en 4 grades (**tableau I**) [2,3]. La qualité et la reproductibilité de la coloration argentique sont fondamentales et une coloration du collagène de type trichrome de Masson est recommandée dès lors que la fibrose dépasse le grade 1 [4]. Une immunohistochimie pour estimer la quantité de blastes CD34 positifs peut être utile. La classification de l'OMS 2016 intègre les mutations de *MPL* et de *CALR* dans les critères diagnostiques majeurs des MFP et des TE; en outre, dans les critères majeurs du diagnostic de la PV, il a été proposé de diminuer les valeurs seuils d'hémoglobine et d'introduire la morphologie médullaire [2,5]. En particulier, la BOM a été suggérée pour détecter les PV masquées et les PV avec fibrose médullaire de grade 1 qui semblent avoir, selon certains auteurs, une évolution plus rapide vers une fibrose médullaire sévère et/ou une progression blastique [6,7].

Les caractéristiques histopathologiques des NMP Ph- sont bien décrites dans la classification de l'OMS 2008 [1] et plusieurs études ont démontré leur reproductibilité satisfaisante [8,9]. Cette revue expose les principaux critères du diagnostic anatomopathologique des trois principales entités de NMP Ph-.

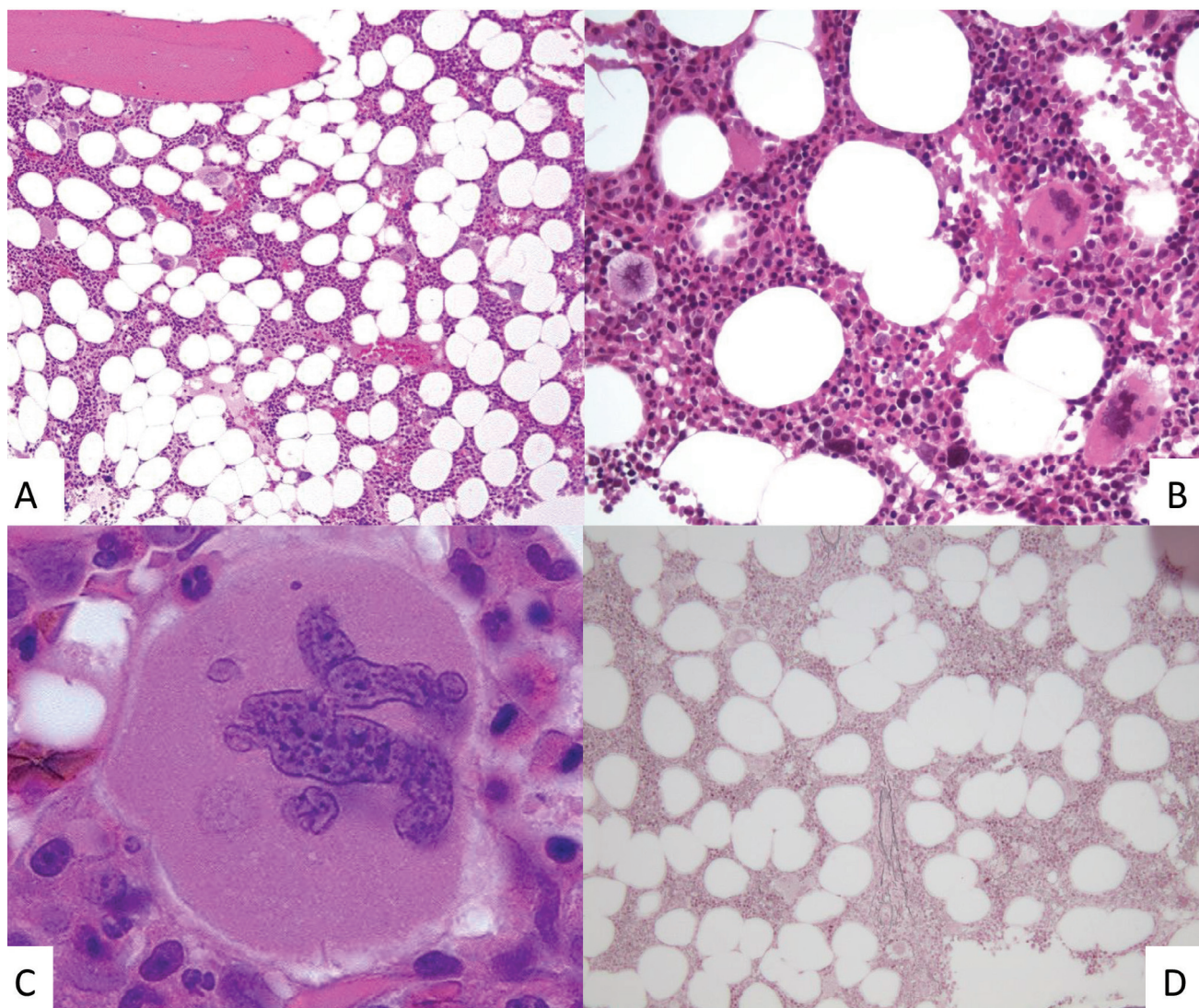
Figure 1 – Aspect histologique (coupe tissulaire d'une biopsie de la moelle osseuse) d'une polyglobulie de Vaquez.



1A A la coloration d'HES présence d'une hyperplasie triligée avec une cellularité augmentée. 1B A la coloration de Giemsa Lent présence d'une hyperplasie des mégacaryocytes avec des éléments pléomorphes (petits à géants), sans anomalie de leur maturation. 1C Absence de fibrose médullaire à la coloration de Gordon Sweet (imprégnation argentique).

© Barbara Burroni

Figure 2 – Aspect histologique (coupe tissulaire d'une biopsie de la moelle osseuse) d'une thrombocytémie essentielle.



2A A la coloration d'HES moelle hématopoïétique de richesse normale pour l'âge. 2B-C A la coloration d'HES présence d'une hyperplasie des mégacaryocytes avec des éléments de grande taille parfois géants, à noyau multilobulé (en « bois de cerf ») et cytoplasme abondant, mature. 2D Absence de fibrose médullaire à la coloration de Gordon Sweet (imprégnation argentique).
© Barbara Burroni

2. Histopathologie de la polyglobulie primitive

L'aspect médullaire est caractéristique tant dans la forme patente que dans la forme précoce/masquée [9]. Il existe une augmentation de la cellularité par rapport à l'âge, modérée (forme précoce) à importante (forme patente) en raison d'une prolifération des lignées érythroblastique, granulocytaire et mégacaryocytaire (classique « panmyélose ») (figure 1A), sans dysplasie. Les mégacaryocytes sont pléomorphes en raison d'une taille très variable (petits à géants), sans anomalie de leur maturation, et certains se regroupent en amas lâches (figure 1B). La plupart des PV lors du diagnostic ne présentent pas de fibrose

médullaire (en particulier dans la forme précoce) (figure 1C), mais une légère fibrose de grade 1 est possible. L'absence de dépôts ferriques avec une coloration de Perl complète le diagnostic différentiel avec les polyglobulies secondaires.

3. Histopathologie de la thrombocytémie essentielle

La moelle est de richesse le plus souvent normale (figure 2A), parfois seulement discrètement augmentée par rapport à l'âge. Il existe une prolifération marquée des mégacaryocytes (figure 2B) avec une prédominance de formes grandes à géantes, à noyau hypermultilobulé (en « cornes de cerf ») et cytoplasme abondant, mature (figure 2C).

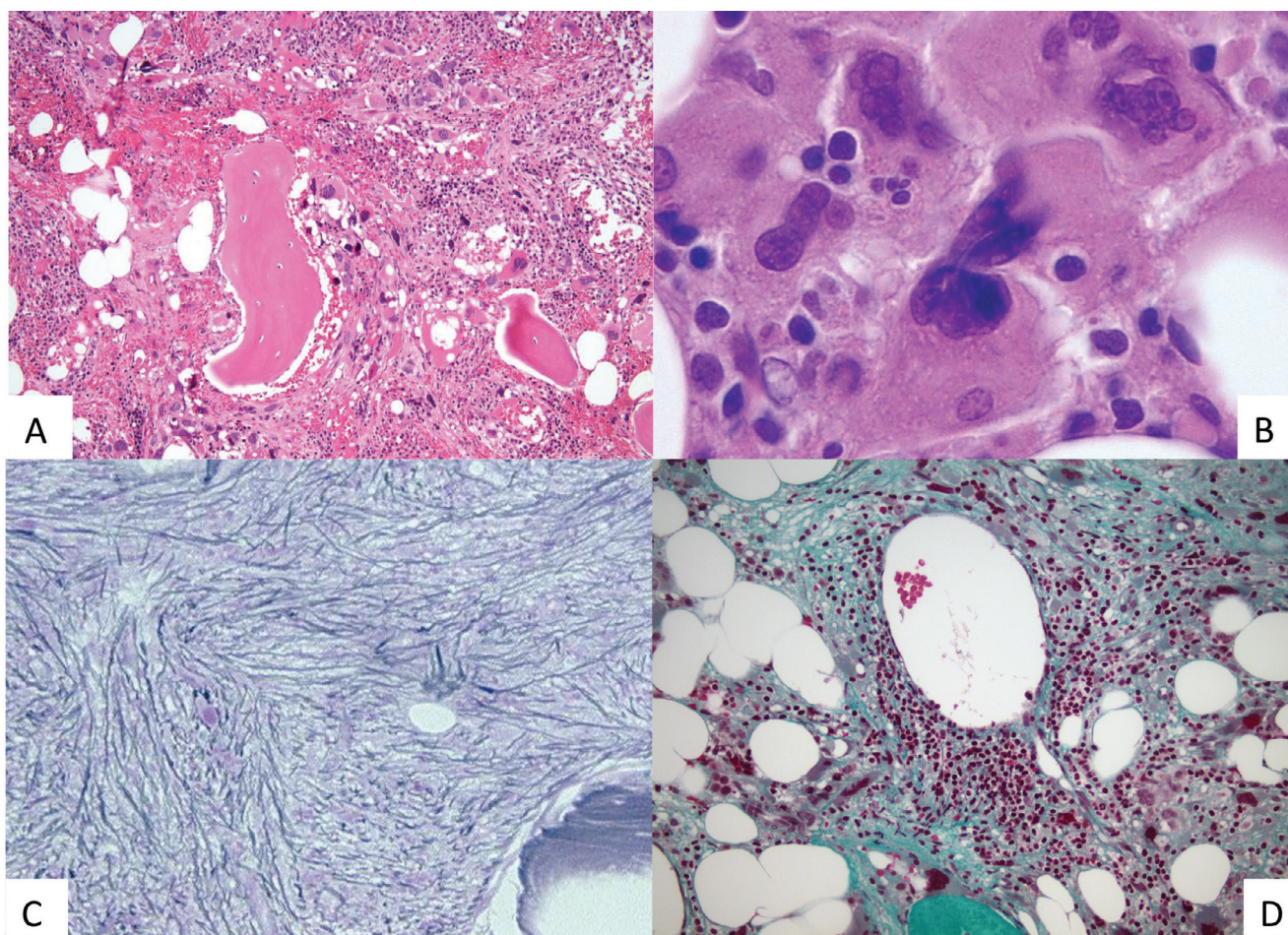
Ils sont dispersés et forment quelques amas lâches. Il n'y pas de prolifération des lignées érythroblastique et granuleuse. Dans la grande majorité des TE le réseau réticulinique est normal ou à peine accentué, traduisant l'absence de fibrose médullaire (MF0) (*figure 2D*). La révision de l'OMS 2016 admet que, très rarement, des TE puissent présenter une légère fibrose tout au plus de grade 1 [2]. La cellularité médullaire, la taille, la forme et la topographie des mégacaryocytes sont des paramètres qui doivent être attentivement évalués pour distinguer la TE d'une forme précoce préfibrotique de MFP (preMFP) qui peut présenter une thrombocytose comme manifestation initiale [11].

4. Histopathologie de la myélofibrose primitive

Dans la phase initiale (preMFP), la cellularité hématopoïétique est augmentée en raison d'une prolifération des

lignées granuleuse et mégacaryocytaire, souvent avec une diminution des érythroblastes (augmentation du rapport leuco-érythroblastique) (*figure 3A*). Les mégacaryocytes se regroupent en nombreux amas plus ou moins compacts, sont souvent anormalement localisés au contact de sinus vasculaires et des travées osseuses. Les anomalies des mégacaryocytes sont plus prononcées que dans les autres MPN Ph- : forte variation de taille (petits à géants), rapport nucléo-cytoplasmique aberrant, noyaux hypolobulés bulbeux « en nuage », noyaux irrégulièrement lobulés, hyperchromatiques et fréquents noyaux nus (*figure 3B*). La fibrose est absente (MF0) ou discrète (MF1) et focale. La phase plus avancée de la maladie (MFP fibrotique ou MFP patente) est caractérisée par une fibrose réticulinique diffuse marquée, pouvant associer une ostéosclérose, de grade 2 ou 3 (*figure 3C*) et une fibrose collagène (*figure 3D et tableau I*). À ce stade, la moelle hématopoïétique peut être encore focalement hypercellulaire, plus souvent normo ou hypocellulaire. Les amas compacts de mégacaryocytes, très dystrophiques comme dans la phase initiale, sont au

Fig 3 – Aspect histologique (coupe tissulaire d'une biopsie de la moelle osseuse) d'une myélofibrose primitive au stade de fibrose médullaire .



3A A la coloration d'HES moelle hématopoïétique riche pour l'âge avec hyperplasie des lignées granuleuse et surtout mégacaryocytaire ; à noter des mégacaryocytes anormalement localisés au contact des travées osseuses. 3B A la coloration d'HES les mégacaryocytes se regroupent en amas compacts. Il existe une forte variation de taille (petits à géants), rapport nucléo-cytoplasmique aberrant, noyaux bulbeux « en nuage », hyperchromatiques. 3C A la coloration de Gordon Sweet (imprégnation argentique) présence d'une fibrose médullaire diffuse systématisée mutilante. 3D A la coloration de trichrome de Masson présence d'une fibrose collagène.

© Barbara Burrioni

premier plan, tandis que les lignées érythroblastique et granuleuse sont hypoplasiques. La fibrose s'accompagne d'une prolifération microvasculaire et des sinus vasculaires dilatés présentent une hématopoïèse intraluminaire, notamment de mégacaryocytes.

L'aspect de la BOM est donc le plus souvent suffisamment caractéristique, sous réserve d'une biopsie de qualité suffisante, pour distinguer les différents types de NMP Ph-. Le diagnostic précis peut être plus difficile si la maladie n'est diagnostiquée qu'au stade avancé de myélofibrose post PV ou, rarement, post TE, avec une fibrose médullaire de grade 2 à 3. La confrontation avec les antécédents clinico-biologiques est alors essentielle [11]. Au stade de fibrose évoluée, la BOM a l'intérêt de pouvoir diagnostiquer une accélération de la maladie par la détection

immunohistochimique de blastes CD34+ en nombre augmenté et en particulier en amas, alors que le myélogramme peut ne pas être représentatif [12].

L'application des critères histologiques de classification en routine n'est néanmoins pas toujours simple même pour des morphologistes expérimentés [13,14]. Le GEBOM, Groupe d'Étude de la Biopsie Ostéo Médullaire, créé en 2015, rassemble les anatomo-pathologistes français qui s'intéressent aux néoplasies myéloprolifératives. Le GEBOM organise des séances de relectures de cas difficile ou la relecture des BOM par série de patients inclus dans les cohortes ou essais thérapeutiques académiques du FIM.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article.

Références

- [1] Swerdlow SH, Campo E, Harris NL, et al (eds). WHO Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues. Lyon, France: IARC; 2008.
- [2] Arber DA, Orazi A, Hasserjian R, et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*. 2016 May 19;127(20):2391-405.
- [3] Thiele J, Kvasnicka HM, Facchetti F, et al. European consensus for grading of bone marrow fibrosis and assessment of cellularity. *Haematologica* 2005;90(8):1128-32.
- [4] Kvasnicka HM, Beham-Schmid C, Bob R, et al. Problems and pitfalls in grading of bone marrow fibrosis, collagen deposition and osteosclerosis - a consensus based study. *Histopathology* 2015 Sep 24. *prepublished* doi:10.1111/his.12871.
- [5] Tefferi A, Thiele J, Vannucchi AM, et al. An overview on CALR and CSF3R mutations and a proposal for revision of WHO diagnostic criteria for myeloproliferative neoplasms. *Leukemia* 2014;28(7):1407-13.
- [6] Barbui T, Thiele J, Gisslinger H, et al. Masked polycythemia vera (mPV): results of an international study. *Am J Hematol* 2014;89(1):52-4.
- [7] Barbui T, Thiele J, Carobbio A, et al. Discriminating between essential thrombocythemia and masked polycythemia vera in JAK2 mutated patients. *Am J Hematol* 2014;89(6):588-90.
- [8] Thiele J, Kvasnicka HM, Müllauer L, et al. Essential thrombocythemia versus early primary myelofibrosis: a multicenter study to validate the WHO classification. *Blood* 2011;117(21):5710-8.
- [9] Gianelli U, Bossi A, Cortinovis I, et al. Reproducibility of the WHO histological criteria for the diagnosis of Philadelphia chromosome-negative myeloproliferative neoplasms. *Mod Pathol* 2014;27(6):814-22.
- [10] Kvasnicka HM, Thiele J. Prodromal myeloproliferative neoplasms: the 2008 WHO classification. *Am J Hematol* 2010;85(1):62-9.
- [11] Barosi G, Mesa RA, Thiele J, et al. Proposed criteria for the diagnosis of post-polycythemia vera and post-essential thrombocythemia myelofibrosis: a consensus statement from the International Working Group for Myelofibrosis Research and Treatment. *Leukemia*. 2008;22(2):437-8.
- [12] Thiele J, Kvasnicka HM, Diehl V. Bone marrow CD34+ progenitor cells in Philadelphia chromosome-negative chronic myeloproliferative disorders—a clinicopathological study on 575 patients. *Leuk Lymphoma*. 2005;46(5):709-15.
- [13] Brousseau M, Parot-Schinkel E, Moles MP, et al. Practical application and clinical impact of the WHO histopathological criteria on bone marrow biopsy for the diagnosis of essential thrombocythemia versus prefibrotic primary myelofibrosis. *Histopathology*. 2010 May;56(6):758-67.
- [14] Gianelli U, Cattaneo D, Bossi A, et al. The myeloproliferative neoplasms, unclassifiable: clinical and pathological considerations. *Mod Pathol*. 2017 Feb;30(2):169-179.

Actualités thérapeutiques dans les néoplasies myéloprolifératives non LMC

Lydia Roy^{a,*}, Valérie Ugo^b et Jean-Jacques Kiladjian^c
Pour le France Inter groupe des syndromes Myéloprolifératifs (FIM)

RÉSUMÉ

Le traitement de la polyglobulie de Vaquez et de la thrombocythémie essentielle consiste à limiter le risque de complications thrombo-hémorragiques et à la préservation de la qualité de vie en essayant de prévenir le risque de transformation hématologique à long terme. Dans la myélofibrose primitive, l'état général et la sévérité de la maladie doivent être appréciés pour juger de la meilleure stratégie thérapeutique incluant les thérapies ciblées et la place de l'allogreffe. Dans tous les cas, la présentation des dossiers en RCP d'hématologie est fortement recommandée et la biologie moléculaire prend une place croissante.

Myélofibrose primitive - polyglobulie de Vaquez - pronostic - thrombocythémie essentielle - traitement.

1. Introduction

Les syndromes myéloprolifératifs non LMC ou néoplasies myéloprolifératives (NMP) sont des hémopathies malignes d'évolution chronique avec une survie longue pour la thrombocythémie essentielle (TE) et la polyglobulie primitive (PV), la myélofibrose primitive se distinguant comme une entité plus grave avec une médiane de survie globale inférieure à 10 ans. Au début de leur évolution, la morbidité des PV et TE est essentiellement liée aux complications vasculaires, mais à plus long terme, la gravité est liée au risque d'évolution vers une myélofibrose secondaire ou un syndrome myélodysplasique/ une leucémie aigüe, de pronostic très péjoratif. Le premier objectif du traitement est donc d'éviter les complications vasculaires, en corrigeant la myéloprolifération en évitant les médicaments susceptibles de favoriser les transformations. Dix ans après la découverte de JAK2 V617F, les NMP entrent dans l'ère d'une thérapie plus per-

sonnalisée grâce à une meilleure approche pronostique et l'apparition des premières thérapies ciblées.

Le nombre de médicaments disposant d'une AMM dans les NMP est encore assez faible, mais à défaut les conférences internationales de consensus et recommandations des sociétés savantes se multiplient, dans le but d'ajuster au mieux les traitements au cas par cas. La communauté médicale essaie également de s'accorder sur les critères d'efficacité ou de résistance aux traitements, particulièrement utiles pour les essais thérapeutiques [1-3].

2. Stratégie générale

Comme pour la myélofibrose primitive (MFP), La présentation des dossiers de thrombocythémie essentielle (TE) et de polyglobulie de Vaquez (PV) en RCP d'hématologie est fortement recommandée.

L'approche thérapeutique consiste à limiter le risque de complications thrombo-hémorragiques, à traiter les symptômes sans exposer le patient à une augmentation du risque de transformation leucémique et même à prévenir le risque d'évolution hématologique sur le long terme. Dans ces maladies chroniques, la prise en compte de la fatigue et la préservation de la qualité de vie est aussi une donnée importante.

Le contrôle des facteurs de risque cardio-vasculaire est primordial. Les traitements hormonaux œstrogéniques (contraception, ménopause) sont contre-indiqués. Premier traitement de la PV, réalisables en urgence devant des

SUMMARY

Therapeutic news in Ph-negative myeloproliferative neoplasms

The treatment of polycythemia vera and essential thrombocythemia aims to limit the risk of thrombo-hemorrhagic complications, to preserve the quality of life and to prevent the risk of long-term hematologic transformation. In primary myelofibrosis, the patient's general condition and the severity of the disease should be assessed to adopt the best therapeutic strategy including new therapies and bone marrow transplantation. In all cases, the presentation in a hematological multidisciplinary board is strongly recommended and place of molecular biology is growing.

Primary myelofibrosis - Polycythemia vera - prognosis - essential thrombocythemia - treatment.

a Hématologie clinique

Hôpital Henri Mondor, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP)
51, avenue du Maréchal de Lattre de Tassigny - 94010 Créteil Cedex

b Hématologie Biologique

CHU Angers
4, Rue Larrey - 49 933 Angers Cedex 9

c Centre d'Investigations Cliniques

Hôpital Saint-Louis, AP-HP
1, avenue Claude Vellefaux - 75010 Paris

* Correspondance
lydia.roy@aphp.fr

article reçu le 25 janvier 2017, accepté le 17 février 2017.

© 2017 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

symptômes d'hyperviscosité ou un hémocrite très élevé, les saignées permettent d'attendre le résultat du bilan moléculaire et la RCP. Les recommandations actuelles s'accordent sur un objectif d'hématocrite inférieur ou égal à 45 %.

Dans la PV, l'étude ECLAP a validé l'utilisation de l'aspirine à faible dose pour réduire les complications vasculaires. Par analogie, un traitement antiagrégant par aspirine à faible dose est recommandé chez les patients atteints de TE en l'absence de contre-indication ou de thrombocytose extrême, mais en l'absence d'étude randomisée dans cette indication, la balance bénéfice/risque peut être discutée pour certaines TE de faible risque (4). Les antiagrégants sont souvent très efficaces sur les symptômes microcirculatoires (érythromélagies). Initialement classique (héparine, AVK), le traitement des thromboses veineuses constituées est mal codifié dans sa durée. Il doit être prolongé en cas de thrombose splanchnique, sévère ou récurrente, même lorsque la réponse hématologique est atteinte. L'utilisation des nouveaux anticoagulants dans les NMP n'est pas validée.

L'indication du traitement cytoréducteur dans la PV ou la TE repose sur l'évaluation du risque thrombotique. Seuls les patients de haut risque de complications vasculaires relèvent obligatoirement d'un traitement cytoréducteur (âge > 60ans, antécédents de thrombose, thrombocytose > 1000-1500 G/L splénomégalie évolutive, saignées mal tolérées). Dans la TE, un traitement cytoréducteur peut aussi être nécessaire en cas de thrombocytose symptomatique (érythromélagies ou manifestations d'hyperviscosité persistantes sous traitement antiagrégant) de syndrome de Willebrand acquis symptomatique ou en cas de chirurgie programmée. Pour les PV de faible risque, les saignées sont recommandées avec l'objectif d'un hémocrite < 45 %.

Dans la MFP, l'état général et la sévérité de la maladie doivent être appréciés pour juger de la meilleure stratégie thérapeutique, guidée par des scores pronostiques (L'IPSS - *International Prognostic Scoring System*, à évaluer au diagnostic et scores dynamiques en cours d'évolution (DIPSS, DIPSSplus...). mais aussi la biologie moléculaire qui prend une place croissante.

3. Traitement de fond

3.1. Les cytoréducteurs

L'hydroxyurée (HU) reste le plus utilisé. Il est très efficace et bien toléré dans la majorité des cas. Les principaux effets secondaires extra-hématologiques sont cutanés et muqueux. Des critères de résistance / intolérance à l'hydroxyurée ont été proposés par l'*European LeukemiaNet*, mais ils sont plutôt utilisés pour les essais cliniques que dans la pratique courante (**tableau I**).

L'anagrélide, qui a l'AMM en deuxième ligne dans la TE en cas de résistance ou intolérance à l'hydroxyurée, est un médicament efficace mais qui pourrait entraîner un risque supérieur d'évolution vers une myélofibrose, en conséquence la réalisation d'une biopsie médullaire avant de débuter le traitement est importante. De plus des effets indésirables cardiaques sévères ont été observés, justifiant la réalisation d'un bilan cardiaque à l'initiation du traitement et une surveillance. Le pipobroman et le busulfan sont associés à un risque leucémogène important à 10 ans et sont à réserver à des situations particulières.

3.2. L'interféron alpha

L'interféron alpha (IFN) a été largement étudié dans les syndromes myéloprolifératifs et son efficacité prouvée en particulier dans la PV. Il a même un effet sur le clone tumoral porteur de la mutation JAK2V617F ou CALR et pourrait changer le cours évolutif de la maladie [5-7]. Les formes péglées ont grandement amélioré la tolérance. Sur ces éléments, l'Interféron péglé figure désormais dans la majorité des recommandations d'experts internationaux en première ligne de traitement pour la PV au même titre que l'HU. Il n'a cependant pas d'AMM jusqu'à présent dans cette indication, mais l'absence d'effet mutagène conduit à l'utiliser au moins chez les patients jeunes ou au cours de la grossesse en l'absence de contre-indications. Une nouvelle forme d'IFN péglée pourrait obtenir l'AMM prochainement [8].

3.3. Le ruxolitinib

Premier « inib » des NMP non LMC, le ruxolitinib (JAKAVI®, Novartis) cible les protéines JAK1 et JAK2. Il a obtenu l'AMM en 2013 « dans le traitement de la splénomégalie ou des symptômes liés à la maladie chez l'adulte atteint de myélofibrose primitive ou secondaire » (études COMFORT 1 et 2) [9-11] et dans la PV en 2015 avec 2 essais randomisés montrant une efficacité hématologique principalement sur l'hématocrite et la splénomégalie et moins d'événements thrombotiques [12]. Il est à ce jour le seul inhibiteur de JAK disponible en France.

Le ruxolitinib est très efficace pour contrôler les symptômes généraux accompagnant la MFP ainsi que le prurit pour la PV. Le profil de tolérance est actuellement favorable. Toutefois, ce traitement étant administré de façon prolongée et le recul sur l'utilisation du ruxolitinib étant encore limité en particulier dans la PV, il nécessite une vigilance particulière. En particulier, il a été décrit une susceptibilité accrue à des infections bactériennes communautaires, une action immunosuppressive avec infections à VZV, HSV, des cas de réactivation d'hépatite virale ou de mycobactérie, voire la description de façon isolée de complications immunosuppressives plus sévères [13]. L'action immunosuppressive du ruxolitinib semble liée à une altération des cellules NK et certains auteurs posent la question de la nécessité d'une prophylaxie anti-infectieuse lors de ce traitement [14,15].

Tableau I - Définition d'une résistance ou intolérance à l'hydroxyurée (HU) dans la PV [24]

1. Nécessité de saignées pour maintenir l'hématocrite à moins de 45 % au moins 3 mois après le début de l'HU à 2 g/jour
2. OU plaquettes > 400 x 10⁹/L ET Leucocytes > 10 x 10⁹/L au moins 3 mois après le début de l'HU à 2 g/jour
3. OU réduction de la splénomégalie de moins de 50 % à la palpation OU persistance des symptômes liés à la splénomégalie au moins 3 mois après le début de l'HU à 2 g/jour
4. Neutrophiles < 1 x 10⁹/L OU plaquettes < 100 x 10⁹/L à la plus petite dose d'HU nécessaire pour maintenir une réponse sur l'hématocrite
5. OU ulcères des membres inférieurs liés à l'HU ou autre effet indésirable « inacceptable » (cutanéomuqueux, pulmonaire, gastro-intestinal, fièvre médicamenteuse)

Le risque de développement de tumeurs cutanées non-mélanomateuses chez des patients préalablement traités par hydroxyurée doit être également surveillé.

4. Objectifs thérapeutiques et critères de réponses dans la PV et la TE

La normalisation de l'hémogramme est l'objectif du traitement cytoréducteur, même s'il n'y a pas de preuve absolue permettant d'affirmer que la normalisation totale de la numération soit indispensable [16]. Le contrôle de l'hématocrite < 45 % et de la leucocytose apparaissent importants pour prévenir le risque de thrombose. Le nombre de plaquettes n'a pas été associé en étude univariée au risque de thrombose mais plutôt au risque hémorragique si fortement élevé. Les critères de réponse hématologique complète de l'*European Leukemia Net* pour la PV et la TE incluent une normalisation de l'hématocrite, un chiffre de plaquettes inférieur à 400 G/L, de leucocytes inférieur à 10 G/L, l'absence de splénomégalie, l'absence de complications thrombo-hémorragiques et même une normalisation histologique de la BOM [17]. Ces critères ont été développés pour les études cliniques testant de nouveaux médicaments ayant pour objectif de modifier l'histoire naturelle de la maladie, et ne sont pas appliqués en pratique courante.

5. La myélofibrose primitive

Le ruxolitinib (JAKAVI®, Novartis) est devenu le traitement de choix pour les patients atteints de MF associée à une volumineuse splénomégalie et/ou signes généraux. Il permet une amélioration de la qualité de vie de ces patients et de leur survie pour les MF avec un IPSS de risque intermédiaire -2 et élevé. L'efficacité du ruxolitinib a aussi été décrite chez les patients mutés CALR ayant les mêmes caractéristiques cliniques [9,10,18]. L'abstention thérapeutique reste pour l'instant la recommandation chez les patients de faible risque et peu ou pas symptomatiques. Pour les autres situations, hormis celles pouvant relever d'une allogreffe ou d'un essai thérapeutique, le traitement de la MFP est essentiellement symptomatique : transfusions, androgènes, et érythropoïétine (EPO) dans les formes avec insuffisance médullaire ou traitement cytoréducteur dans les formes hyperleucocytaires. La splénectomie ou l'irradiation splénique sont palliatives.

5.1. Place de l'allogreffe

Actuellement, la seule option curative de la myélofibrose primitive reste l'allogreffe de cellules souches. Souvent inenvisageable, en raison d'un âge avancé ou de comorbidités, elle est par elle-même responsable d'une morbi-mortalité élevée. Elle doit être envisagée chez les patients « éligibles » dont la survie attendue liée à la MF est inférieure à 5 ans (scores IPSS intermédiaire-2 et élevé). Les anomalies cytogénétiques (caryotype défavorable) et les besoins transfusionnels non inclus dans l'IPSS, doivent également être pris en compte comme autres facteurs pronostiques (score DIPSS-plus). La recherche de mutations dites de haut risque moléculaire (ASXL1, IDH1/2, EZH2 et SRSF2) pourrait donner des argu-

ments supplémentaires à cette prise de décision difficile [19]. Les recommandations de l'ELN 2011 ont été mises à jour en 2015 en lien avec l'EBMT.

6. Autres traitements

Deux autres inhibiteurs de JAK le pacritinib et le momélotinib sont actuellement toujours en cours d'évaluation, sachant que certains développements ont été interrompus en raison de toxicités. Parmi les autres molécules testées dans des essais de phase précoce, on peut citer des inhibiteurs de mTOR/PI3K, des inhibiteurs de HDAC, un inhibiteur de télomérase (imetelstat), des agents anti-fibrosant, des agents déméthylants, seuls ou en combinaison avec le ruxolitinib [20-23].

7. Suivi thérapeutique et surveillance

La prise en charge des PV et TE est ambulatoire avec l'aide du médecin traitant, avec une surveillance de l'hémogramme tous les 1 à 3 mois, et une consultation d'hématologie spécialisée tous les 6 à 12 mois. Une lecture annuelle du frottis sanguin est conseillée. Dans la MFP, le suivi est généralement plus rapproché, et dépend du traitement et des besoins transfusionnels.

En dehors des protocoles, de traitement connu pour induire une réponse moléculaire (interféron), ou d'une évolution hématologique, il n'y a pas d'indication formelle à renouveler le bilan moléculaire mais la conservation d'un échantillon d'ADN du diagnostic et au cours du suivi est souhaitable pour permettre des études ultérieures dans le contexte de l'évolution rapide des connaissances et le développement de thérapies ciblées.

8. Conclusion

L'arsenal thérapeutique des NMP Ph-négatifs est encore limité, mais avec l'arrivée des premiers traitements ciblés et des développements autour de l'Interféron, il est probable que les dix années qui viennent conduisent à revisiter totalement les attitudes thérapeutiques, à l'instar de ce qui s'est passé dans d'autres hémopathies comme dans la leucémie lymphoïde chronique. L'essor sans précédent de la biologie moléculaire permet la mise en place de nombreuses études cliniques pilotées ou adossées à la génomique.

Liens d'intérêts :

L R : Novartis : Support financier recherche, membre d'« advisory board », conférences éducationnelles, frais de congrès, AOP Orphan : membre d'« advisory board, frais de congrès

V U : Novartis : frais de Congrès, membre d'« advisory board »

J-J K : Novartis: support financier recherche, membre d'« advisory board », conférences éducationnelles, frais de congrès; AOP Orphan: support financier recherche, membre d'« advisory board »; Shire: conférences éducationnelles.

Références

- [1] Barbui T, Barosi G, Birgegard G, et al. Philadelphia-Negative Classical Myeloproliferative Neoplasms: Critical Concepts and Management Recommendations From European LeukemiaNet. *J Clin Oncol*. 2011 Feb 20;29(6):761-70.
- [2] Vannucchi AM, Barbui T, Cervantes F, et al. Philadelphia chromosome-negative chronic myeloproliferative neoplasms: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol*. 2015 Sep 1;26(suppl_5):v85-99.
- [3] Rumi E, Cazzola M. How I treat essential thrombocythemia. *Blood*. 2016 Nov 17;128(20):2403-14.
- [4] Alvarez-Larrán A, Pereira A, Guglielmelli P, et al. Antiplatelet therapy versus observation in low-risk essential thrombocythemia with a CALR mutation. *Haematologica*. 2016 Aug 1;101(8):926-31.
- [5] Kiladjan JJ, Mesa RA, Hoffman R. The renaissance of interferon therapy for the treatment of myeloid malignancies. *Blood*. 2011 May 5;117(18):4706-15.
- [6] Verger E, Cassinat B, Chauveau A, et al. Clinical and molecular response to interferon- α therapy in essential thrombocythemia patients with CALR mutations. *Blood*. 2015 Dec 10;126(24):2585-91.
- [7] Kiladjan JJ, Giraudier S, Cassinat B. Interferon- α for the therapy of myeloproliferative neoplasms: targeting the malignant clone. *Leukemia*. 2016 Apr;30(4):776-81.
- [8] Gisslinger H, Zagrijtschuk O, Buxhofer-Ausch V, et al. Ropeginterferon alfa-2b, a novel IFN- α 2b, induces high response rates with low toxicity in patients with polycythemia vera. *Blood*. 2015 Oct 8;126(15):1762-9.
- [9] Verstovsek S, Mesa RA, Gotlib J, et al. A Double-Blind, Placebo-Controlled Trial of Ruxolitinib for Myelofibrosis. *N Engl J Med*. 2012 Mar 1;366(9):799-807.
- [10] Harrison C, Kiladjan JJ, Al-Ali HK, et al. JAK Inhibition with Ruxolitinib versus Best Available Therapy for Myelofibrosis. *N Engl J Med*. 2012 Mar 1;366(9):787-98.
- [11] Marchetti M, Barosi G, Cervantes F, et al. Which patients with myelofibrosis should receive ruxolitinib therapy? ELN-SIE evidence-based recommendations. *Leukemia*. 2016 Nov 18; [Epub ahead of print].
- [12] Vannucchi AM, Kiladjan JJ, Griesshammer M, et al. Ruxolitinib versus Standard Therapy for the Treatment of Polycythemia Vera. *N Engl J Med*. 2015 Jan 29;372(5):426-35.
- [13] Von Hofsten J, Johnsson Forsberg M, Zetterberg M. Cytomegalovirus Retinitis in a Patient Who Received Ruxolitinib. *N Engl J Med*. 2016 Jan 21;374(3):296-7.
- [14] Heine A, Brossart P, Wolf D. Ruxolitinib is a potent immunosuppressive compound: is it time for anti-infective prophylaxis? *Blood*. 2013 Nov 28;122(23):3843-4.
- [15] Schönberg K, Rudolph J, Vonnahme M, et al. JAK Inhibition Impairs NK Cell Function in Myeloproliferative Neoplasms. *Cancer Res*. 2015 Jun 1;75(11):2187-99.
- [16] Alvarez-Larrán A, Pereira A, Cervantes F, et al. Assessment and prognostic value of the European LeukemiaNet criteria for clinicohematologic response, resistance, and intolerance to hydroxyurea in polycythemia vera. *Blood*. 2012 Feb 9;119(6):1363-9.
- [17] Barosi G, Mesa R, Finazzi G, et al. Revised response criteria for polycythemia vera and essential thrombocythemia: an ELN and IWG-MRT consensus project. *Blood*. 2013 Jun 6;121(23):4778-81.
- [18] Passamonti F, Caramazza D, Maffioli M. JAK inhibitor in CALR-mutant myelofibrosis. *N Engl J Med*. 2014 Mar 20;370(12):1168-9.
- [19] Vannucchi AM, Lasho TL, Guglielmelli P, et al. Mutations and prognosis in primary myelofibrosis. *Leukemia*. 2013 Sep;27(9):1861-9.
- [20] Baerlocher GM, Oppliger Leibundgut E, Ottmann OG, et al. Telomerase Inhibitor Imetelstat in Patients with Essential Thrombocythemia. *N Engl J Med*. 2015 Sep 3;373(10):920-8.
- [21] Tefferi A, Lasho TL, Begna KH, et al. A Pilot Study of the Telomerase Inhibitor Imetelstat for Myelofibrosis. *N Engl J Med*. 2015 Sep 3;373(10):908-19.
- [22] Vannucchi AM, Harrison CN. Emerging treatments for classical myeloproliferative neoplasms. *Blood*. 2017 Feb 9;129(6):693-703.
- [23] Leroy E, Constantinescu SN. Rethinking JAK2 inhibition: towards novel strategies of more specific and versatile janus kinase inhibition. *Leukemia*. 2017 Feb 17; [Epub ahead of print].
- [24] Barosi G, Birgegard G, Finazzi G, et al. A unified definition of clinical resistance and intolerance to hydroxycarbamide in polycythemia vera and primary myelofibrosis: results of a European LeukemiaNet (ELN) consensus process. *Br J Haematol*. 2010 Mar 1;148(6):961-3.

QCM Évaluez-vous !

Ceci est un questionnaire à choix multiples.

Par conséquent, il est possible que certaines questions puissent bénéficier de plusieurs réponses possibles.

Dans ce cas, il s'agit de les cocher toutes.

1 Quelles sont les affirmations exactes au sujet de l'épidémiologie des néoplasies myéloprolifératives chroniques ?

- ☐ A. La polyglobulie de Vaquez est plus fréquente que la thrombocyémie essentielle.
- ☐ B. La thrombocyémie essentielle est plus fréquente que la myélofibrose.
- ☐ C. La thrombocyémie essentielle est aussi fréquente que la leucémie myéloïde chronique.
- ☐ D. La leucémie myéloïde chronique est aussi fréquente que la polyglobulie de Vaquez.
- ☐ E. La myélofibrose primitive est la néoplasie myéloproliférative la moins fréquente.

2 Quelles sont les affirmations exactes au sujet de l'épidémiologie des néoplasies myéloprolifératives chroniques ?

- ☐ A. Le sex ratio montre une prédominance masculine dans toutes les néoplasies myéloprolifératives chroniques.
- ☐ B. Le sex ratio le plus déséquilibré est retrouvé dans la polyglobulie de Vaquez.
- ☐ C. L'âge médian de la PV est plus élevé que dans la MFP.
- ☐ D. La LMC est la néoplasie myéloproliférative chronique qui est diagnostiquée à l'âge médian le plus jeune.
- ☐ E. La TE est la néoplasie myéloproliférative chronique qui est diagnostiquée à un âge médian plus avancé.

3 Dans les néoplasies myéloprolifératives chroniques, la survie relative à 5 ans :

- ☐ A. Est identique quel que soit le sexe.
- ☐ B. Est plus élevée dans la LMC que dans la PV.
- ☐ C. Est la plus mauvaise chez l'homme avec une myélofibrose primitive.
- ☐ D. Est meilleure dans la TE que dans les autres néoplasies myéloprolifératives chroniques.
- ☐ E. Est meilleure dans la TE, la PV, la LMC puis la MFP.

4 Dans la polyglobulie de Vaquez, les nouveaux critères diagnostics majeurs sont :

- ☐ A. La mutation de Jak2 V617F ou de l'exon 12 ou de la CALR.
- ☐ B. La biopsie ostéomédullaire.
- ☐ C. Un taux d'hémoglobine supérieur à 18,5 g/dL chez l'homme et à 16,5 g/dL chez la femme.

- ☐ D. Un taux d'hémoglobine supérieur à 16,5 g/dL chez l'homme et à 16 g/dL chez la femme.
- ☐ E. Un taux d'érythropoïétine abaissé.

5 Dans la thrombocyémie essentielle :

- ☐ A. La biopsie osseuse est recommandée.
- ☐ B. La biopsie osseuse est un critère majeur.
- ☐ C. Les mutations de JAK2, MPL ou CALR sont un critère majeur.
- ☐ D. L'absence de BCR-ABL est un critère mineur.
- ☐ E. Le diagnostic nécessite la présence des quatre critères majeurs ou de trois critères majeurs et du critère mineur.

6 Parmi les modifications de la classification 2016 des hémopathies, on note que :

- ☐ A. Les leucémies myélomonozytaires chroniques sont considérées à nouveau comme des néoplasies myéloprolifératives.
- ☐ B. Le diagnostic positif de la LMC BCR-ABL positif reste inchangé.
- ☐ C. Une entité dite « myélofibrose précoce » a été créée.
- ☐ D. Les mastocytoses ne sont plus classées dans les néoplasies myéloprolifératives.
- ☐ E. La présence de la mutation de CSF3R dans la leucémie chronique à neutrophiles a été introduite comme critère diagnostique.

7 La LMC :

- ☐ A. Est toujours caractérisée par un réarrangement BCR-ABL1.
- ☐ B. Est toujours caractérisée par la présence du chromosome Philadelphia.
- ☐ C. Est désormais curable grâce aux inhibiteurs de tyrosine kinase (ITK).
- ☐ D. Les ITK sont actifs sur les cellules leucémiques matures, mais aussi sur les cellules souches leucémiques.
- ☐ E. Est aujourd'hui contrôlée par les inhibiteurs de tyrosine kinase.

8 Le suivi moléculaire de la LMC :

- ☐ A. Il se fait classiquement par la quantification des ARNm BCR-ABL1.
- ☐ B. L'utilisation d'ABL1 comme gène contrôle (dans le rapport BCR-ABL1/ABL1) ne pose aucun problème de distorsion.
- ☐ C. La PCR digitale pourrait devenir une alternative à la RQ-PCR pour quantifier les ARNm BCR-ABL1.
- ☐ D. La réponse moléculaire majeure correspond à un taux BCR-ABL1/ABL1IS de 0,1 %.
- ☐ E. La PCR sur ADN est beaucoup moins sensible que la RQ-PCR couramment utilisée.

9 Le phénomène de résistance aux ITK :

- ☐ A. Il peut être la conséquence de la présence de mutations dans le domaine kinase de BCR-ABL.
- ☐ B. Les mutants T315I sont sensibles aux inhibiteurs de 2^e génération (nilotinib, dasatinib, bosutinib).
- ☐ C. Le séquençage Sanger ne permet la caractérisation que des clones mutés majoritaires.
- ☐ D. Si le ponatinib est efficace sur les mutants T315I, il ne l'est pas sur ceux de la boucle P.
- ☐ E. Le séquençage haut débit permet la détection de tous les clones mutés (majoritaires et minoritaires).

10 Concernant l'organisation des niches hématopoïétiques, cochez les affirmations vraies :

- ☐ A. L'expression des potentialités des cellules souches hématopoïétiques sont dépendantes de leur environnement.
- ☐ B. Seuls les composants cellulaires sont capables de modifier les capacités de différenciation et de prolifération des cellules souches hématopoïétiques.
- ☐ C. Schématiquement, la niche dite endostéale est le siège de la prolifération des cellules souches hématopoïétiques, tandis que la niche dite vasculaire est celui de la quiescence.
- ☐ D. Les cellules médullaires exprimant la nestine sont fortement impliquées dans la régulation des cellules souches hématopoïétiques et participent à l'intégration des signaux neurologiques dans cette régulation.

11 Concernant l'implication des niches hématopoïétiques dans la physiopathologie des hémopathies malignes, cochez les affirmations vraies :

- ☐ A. Dans les modèles murins, des mutations au niveau des composants cellulaires des niches hématopoïétiques sont insuffisantes à provoquer l'apparition d'un clone hématologique pathologique.

- ☐ B. Dans les modèles murins, des modifications de la composition de la matrice extracellulaire sont capables d'induire une hémopathie.
- ☐ C. En pathologie humaine, il existe des preuves de l'existence de mutation au niveau des niches hématopoïétiques au cours des hémopathies.
- ☐ D. En pathologie humaine, les modifications des niches hématopoïétiques observées au cours des hémopathies sont clairement dépendantes de la stimulation par le clone hématologique pathologique.

12 Concernant l'implication des niches hématopoïétiques dans la physiopathologie des néoplasies myéloprolifératives, cochez les affirmations vraies :

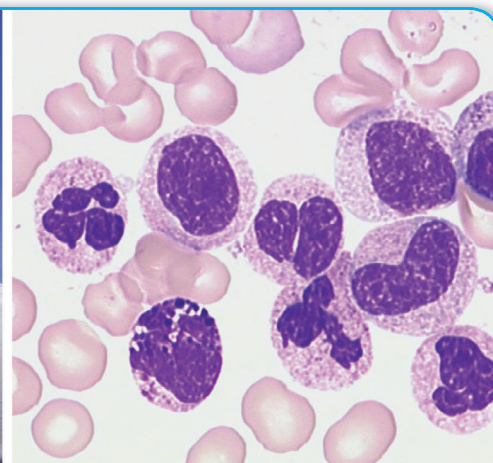
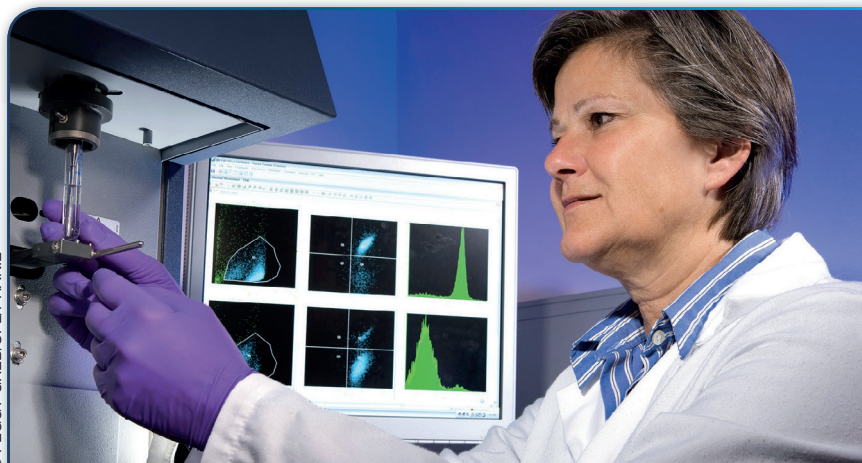
- ☐ A. Les cellules stromales mésenchymateuses pourraient jouer un rôle important dans l'histoire naturelle de ces maladies.
- ☐ B. Le traitement du clone hématologique pathologique permet une restitution *ad integrum* du microenvironnement médullaire au cours de ces hémopathies.
- ☐ C. L'inflammation pourrait provoquer des modifications épigénétiques dans les cellules stromales et modifier durablement leur comportement.
- ☐ D. Des essais cliniques ciblant le micro-environnement ont montré d'excellents résultats et des thérapeutiques nouvelles devraient être prochainement disponibles.

13 Quelles mutations ont comme résultat biologique une activation de la voie JAK-STAT dans les NMP :

- ☐ A. JAK2 V617F
- ☐ B. MPL 515
- ☐ C. CALR
- ☐ D. LNK
- ☐ E. CBL

14 La calréticuline mutée

- ☐ A. Est capable d'induire un syndrome myéloprolifératif chez la souris.
- ☐ B. Active le récepteur de la thrombopoïétine.
- ☐ C. Active le récepteur de l'érythropoïétine.
- ☐ D. Active la voie JAK-STAT.
- ☐ E. Présente une localisation intracellulaire différente de la forme sauvage.



15 Concernant la thrombocythémie essentielle:

- ☐ A. La présence d'une mutation « driver » n'est pas toujours nécessaire pour porter le diagnostic.
- ☐ B. Elle est caractérisée principalement par une prolifération de la lignée mégacaryocytaire.
- ☐ C. Elle peut être associée une fibrose médullaire de grade élevé au diagnostic.
- ☐ D. Les mégacaryocytes sont surtout dispersés sans formation d'amas cellulaires compacts.
- ☐ E. Elle peut évoluer rapidement vers une myélofibrose secondaire.

16 Concernant la polyglobulie de Vaquez

- ☐ A. Elle correspond à une prolifération des trois lignées hématopoïétiques.
- ☐ B. Elle n'intéresse que la lignée érythroblastique.
- ☐ C. Au diagnostic peut s'associer à une fibrose médullaire légère de grade 1 au maximum.
- ☐ D. Les mégacaryocytes sont dispersés et ne forment jamais d'amas.
- ☐ E. Les mégacaryocytes sont de taille et de morphologie très monomorphe.

17 Concernant la myélofibrose primitive

- ☐ A. La fibrose collagène s'observe uniquement avec une fibrose médullaire réticulinique de grade 3.
- ☐ B. Il est possible morphologiquement de faire la distinction entre myélofibrose primitive et secondaire.
- ☐ C. Dans les stades avancés de la myélofibrose chronique, la cellularité peut être très diminuée par rapport à l'âge du patient.
- ☐ D. La lignée érythroblastique est hypoplasique.
- ☐ E. La lignée granuleuse est dysplasique.

18 Quels traitements ont une AMM dans les néoplasies myéloprolifératives?

- ☐ A. Le busulfan.
- ☐ B. L'interféron alpha.
- ☐ C. L'hydroxyurée.
- ☐ D. Le pipobroman.
- ☐ E. Le ruxolitinib.

19 Concernant la stratégie thérapeutique des néoplasies myéloprolifératives:

- ☐ A. L'abstention thérapeutique est fréquente dans la polyglobulie de Vaquez.
- ☐ B. L'allogreffe doit être envisagée dans la myélofibrose primitive.
- ☐ C. Un bilan moléculaire myéloïde large est indispensable au choix du traitement.
- ☐ D. Les anticoagulants au long cours sont utilisés même en l'absence de thrombose.
- ☐ E. Le ruxolitinib est une option thérapeutique dans la polyglobulie de Vaquez.

20 L'évaluation de la réponse au traitement en pratique courante:

- ☐ A. Est surtout basée sur l'hémogramme.
- ☐ B. Nécessite de répéter la biopsie ostéo-médullaire.
- ☐ C. Comprend l'appréciation clinique de la taille de la rate.
- ☐ D. Nécessite de répéter le dosage d'EPO.
- ☐ E. Nécessite de répéter le bilan moléculaire.

RÉPONSES AUX QUESTIONS

Voir en première page de la rubrique
Entreprise Labo, page 69

Intégration chromosomique de HHV6, un piège diagnostique potentiel

Agathe Boudet ^a, Alexandre Maria ^b, Michel Segondy ^a, Vincent Foulongne ^{a,*}

1. Introduction

L'herpès virus humain type 6 (HHV-6) est un virus de la famille des *Herpesviridae*, appartenant à la sous-famille des *Betaherpesvirinae*. C'est un virus possédant un génome à ADN, associé à une capsid icosaédrique et une enveloppe virale selon une structure caractéristique des *Herpesviridae*. Deux variants, A et B du HHV-6 sont reconnus avec une large prédominance du type B dans la population [1]. La physiopathologie de l'infection est elle aussi caractéristique des *Herpesviridae* avec une primo-infection suivie d'une latence virale à vie pouvant être ponctuée de réactivations. Comme pour le cytomégalovirus (CMV), un autre *Betaherpesvirinae*, le tropisme cellulaire du HHV-6 est très étendu et inclut lymphocytes T, monocytes-macrophages, cellules hématopoïétiques, cellules épithéliales, cellules endothéliales mais également cellules microgliales, oligodendrocytes et astrocytes [2].

Au sein de la famille des *Herpesviridae*, HHV-6 présente une faculté très originale d'intégration chromosomique de son génome dans le génome cellulaire, cet événement est rare (0,5-1 % des sujets infectés) et concerne un nombre variable de cellules [3]. Lorsque cette intégration chromosomique affecte les cellules germinales, une transmission Mendélienne est alors possible avec des individus dont l'ensemble des cellules arboreront constitutivement un génome HHV-6. Les conséquences physiopathologiques de cette intégration chromosomique sont encore mal définies [4].

HHV-6 est un virus ubiquitaire avec une séroprévalence proche de 90 % chez l'adulte. L'acquisition survient dans la petite enfance entre 6 mois et 3 ans, vraisemblablement après transmission par voie salivaire [1]. La primo-infection est généralement asymptomatique mais peut toutefois s'exprimer sous forme d'un exanthème subit communément appelé roséole infantile ou sixième maladie.

La complication majeure de la primo-infection par HHV-6 reste le risque convulsif associé à la fièvre. Toutefois certains évoquent également la composante neurotrope du virus pour expliquer ce risque. De plus, de rares formes graves à type de méningites, méningo-encéphalites, hépatites ou insuffisance médullaire ont été rapportées essentiellement chez de jeunes enfants [5].

Les réactivations endogènes sont fréquentes mais sans conséquence chez les patients immunocompétents. Au contraire ces réactivations peuvent être préoccupantes chez les patients immunodéprimés et induire des infections systémiques pouvant être sévères comme des encéphalites (greffés de moelle osseuse, patients HIV positifs), des hépatites (transplantés hépatiques), des gastro-entérites et colites (transplantés d'organes solides, patients HIV positifs) ou des pneumopathies, (greffés de moelle osseuse) et rétinites (patients HIV positifs). Ces réactivations se confondent également fréquemment avec celle du CMV compliquant ainsi leur diagnostic étiologique.

Considérant la très forte séroprévalence, le diagnostic sérologique de HHV-6 n'a que peu d'intérêt. Le diagnostic se fait donc essentiellement par biologie moléculaire avec détection du génome viral dans les prélèvements par amplification génique. La PCR peut être qualitative pour poser un diagnostic d'une infection par HHV6 dans des prélèvements et fluides biologiques de diverses natures (prélèvements respiratoires, LCR, biopsies...) ou quantitative dans le sang notamment lors du suivi des réactivations virales chez les patients immunodéprimés [6].

Dans certains cas, l'intégration chromosomique de HHV6 va interférer avec ces approches de détection moléculaire et compliquer l'interprétation des résultats. Nous présentons ici le cas d'une patiente sous corticothérapie au long cours présentant des signes de méningo-encéphalite et pour laquelle les explorations étiologiques illustrent cette difficulté diagnostique.

2. Cas clinique

Une patiente de 73 ans est hospitalisée fin octobre 2016 pour une méningoencéphalite d'évolution subaiguë, survenue au décours du sevrage d'une corticothérapie initiée 10 mois plus tôt pour une maladie dysimmunitaire associant myopathie inflammatoire, panniculite cutanée et pneumopathie lymphoïde cryptogénique. Les autres antécédents de la patiente comportent un adénocarcinome colique considéré guéri depuis plus de 10 ans, et une HTA essentielle traitée par ARA2 et bêta-bloquants. La présentation clinique initiale associait des céphalées rétro-orbitaires d'aggravation progressive sur trois semaines, accompagnées de toux non

^a Laboratoire de Virologie

Pôle Biologie Pathologie

^b Département de Médecine interne

Pôle clinique Médicale

CHU de Montpellier

191 avenue du Doyen Gaston Giraud

34295 Montpellier cedex 5

* Correspondance

v-foulongne@chu-montpellier.fr

article soumis le 13 novembre accepté le 30 novembre 2016

© 2017 – Elsevier Masson SAS – Tous droits réservés.

productive, pour laquelle une antibiothérapie par amoxicilline et les anti-inflammatoires non stéroïdiens avaient été inefficaces à la mi-octobre. Devant l'apparition d'un ralentissement psychomoteur, de troubles phasiques et d'une ataxie, la patiente est orientée vers les urgences neurologiques et hospitalisée. À l'arrivée, on ne note ni hyperthermie ni syndrome méningé franc, mais un tableau plutôt encéphalitique. Il n'y a pas de syndrome inflammatoire biologique, avec un hémogramme normal et une CRP à 2 mg/L, sans élévation des CPK, ni d'anomalie hépatique ou rénale à la prise en charge. L'IRM cérébrale initiale ne montre que des signes de leucopathie vasculaire. La ponction lombaire est en faveur d'une méningite lymphocytaire avec une protéinorachie à 0,62 g/l et une cytorachie significative (80 cellules par mm³ et 6 hématies par mm³) et une prédominance lymphocytaire avec 97 % de lymphocytes et 3 % de polynucléaire, sans cellule atypique. Une antibiothérapie associant cefotaxime et amoxicilline à doses méningées est initiée, avec aciclovir dans l'hypothèse d'une encéphalite virale. L'examen direct est négatif et les cultures bactériologiques restent stériles. Les sérologies listeria, syphilis, hépatite B, C et VIH sont négatives ainsi que la recherche par PCR dans le LCR d'entérovirus, du cytomégalovirus, des virus Herpes simplex, du virus Varicelle-Zona et du virus Epstein-Barr. Le test QuantiFERON (dépistage de l'infection tuberculeuse latente ou active) est négatif. Sur le plan immunologique, on ne note que des anticorps anti-nucléaires sans spécificité au 1/160, sans antigène soluble ni anti ADN natif ni ANCA. Le complément est normal, ainsi que l'enzyme de conversion de l'angiotensine; il n'y a pas d'anomalie monoclonale à l'immunofixation des protéines plasmatiques, l'immunophénotypage lymphocytaire dans le sang et le LCR est normal, sans réarrangement monoclonal TCR ou BCR circulant. La recherche d'anti-onconeuronaux dans le sang et le LCR est négative dans l'hypothèse d'une encéphalite paranéoplasique. Le TEP-scanner retrouve des éléments hypermétaboliques au niveau du parenchyme pulmonaire ainsi qu'au niveau des muscles et des tissus-sous-cutanés, correspondant à la pathologie inflammatoire connue, et confirmée histologiquement. L'échocardiographie est normale, ainsi que la biopsie ostéoméduleuse, réalisée dans l'hypothèse d'une hémopathie lymphoïde. Sept jours plus tard, l'état neurologique de la patiente se dégrade brutalement, avec apparition de troubles de la vigilance, justifiant d'un transfert en réanimation pour assistance respiratoire. L'IRM cérébrale montre alors un rehaussement lepto- et pachyméningé en faveur d'une méningite évolutive, sans autre anomalie. Il n'y a pas d'argument pour une épilepsie à l'électroencéphalogramme. Une nouvelle ponction lombaire est réalisée, qui retrouve une hyperprotéinorachie à 0,82 mmol/l avec diminution de la leucorachie à cellules par mm³ et de deux hématies par mm³. La PCR pour HHV-6 est positive dans le LCR avec une charge virale à 4 log copies/mL. Le diagnostic de réactivation de HHV6 avec méningo-encéphalite, favorisée par l'immunosuppression est proposé, et un traitement spécifique par ganciclovir est initié. Un LCR de contrôle confirme la présence de HHV-6 sans diminution significative de la charge virale (3,8 log copies/mL). Toutefois, l'état de la patiente s'améliore à J7 de ganciclovir, permettant la ventilation spontanée, puis la sortie au domicile de la patiente quelques jours

plus tard, avec une récupération *ad integrum* sur le plan neurologique. Devant cette présentation clinique, un échange entre cliniciens et virologues permet de discuter l'implication de l'HHV-6 dans la méningo-encéphalite et en particulier la possibilité d'une intégration du virus dans le génome. Une PCR quantitative, réalisée sur le sang, montre une charge virale de 4 490 000 copies/mL (soit 6,65 log copies/mL). L'intégration génomique est finalement confirmée par la détection de l'ADN viral dans les follicules pileux.

3. Discussion

HHV-6 est un virus lymphotrope et neurotrope. Son implication dans des pathologies du système nerveux central est décrite lors de primo-infections et plus volontiers encore lors de réactivations dans des états d'immunodépression. Ces réactivations virales s'accompagnent d'une cinétique de réplication virale importante qui peut être aisément mesurée par des techniques de charge virale sur le sang périphérique basées essentiellement sur des approches de PCR quantitative en temps réel. Une augmentation significative de charge virale associée aux signes cliniques permet de distinguer une infection active d'une infection latente telle qu'elle est rencontrée chez la plupart des individus. Si cette réactivation s'accompagne de signes cliniques spécifiques, la détection du virus HHV6 sur les sites infectieux comme le LCR, les prélèvements respiratoires ou certaines biopsies permet le plus souvent de confirmer le diagnostic étiologique.

Toutefois une détection de HHV-6 dans le LCR de patient présentant des signes neurologiques doit toujours être interprétée avec prudence. En raison de la latence virale probable dans notamment les cellules lymphocytaires, la détection du génome HHV6 dans le LCR peut n'être en fait qu'un reflet d'une leucorachie significative. D'autre part l'intégration chromosomique du génome viral, même si cela reste un phénomène rare dans la population, peut également perturber l'interprétation et orienter vers un faux diagnostic d'encéphalite à HHV-6. Généralement dans ce cas, la charge virale dans le LCR, souvent élevée, est plus volontiers en lien avec une lyse cellulaire ou une hyperleucorachie que le résultat d'une réplication intrathécale active du virus. Des études ont montré que la charge virale HHV-6 dans le LCR de patients avec intégration chromosomique était significativement plus forte (de l'ordre de 4 log copies/mL) que dans le LCR de patients présentant des signes neurologiques lors d'infections actives à HHV-6 [7]. Ainsi dans le cas de notre patiente, la charge virale dans le LCR, de l'ordre de 4 Log log copies/mL, est probablement à rapprocher de la leucorachie à 80 cellules/mm³.

Pour confirmer ce soupçon d'une intégration chromosomique du génome d'HHV-6, l'approche la plus pertinente est d'apprécier la charge virale sur sang total. En effet, l'intégration virale concernant l'ensemble des cellules de l'organisme et si l'on considère que le sang contient entre 4 et 7 millions de cellules nucléées par millilitre, il faut donc attendre des charges virales en copies de génome d'HHV6 supérieures à 6 log copies/mL. Il est désormais bien établi que des charges virales HHV-6 supérieures à 6 log copies/mL, doivent faire suspecter d'emblée une intégration chromosomique [8]. La confirmation pouvant

également venir d'une détection du génome HHV-6 dans les phanères (ongles, follicules pileux.) [8]. Bien sûr des techniques par hybridation *in situ* permettent également de confirmer la présence d'une copie de génome viral sur un télomère des chromosomes des cellules hôtes, cette approche plus lourde et plus complexe reste peu utilisée en pratique courante.

Ce phénomène d'intégration chromosomique est unique chez les herpesvirus humains et doit être distingué de la possible intégration du génome de l'EBV dans des cellules de lignées B transformées. Chez l'animal, un virus herpès aviaire, le virus de la maladie de Marek présente des propriétés proches de celles d'HHV-6. Les déterminants qui conduisent à l'intégration de HHV-6 sont mal connus. Cette intégration a toujours lieu au niveau des télomères du chromosome de la cellule hôte probablement par le jeu de mécanismes de recombinaisons entre des séquences répétées du génome viral et des séquences télomériques très proches. [9]. Lorsque cette intégration affecte également les cellules germinales, le génome HHV6 intégré peut alors être transmis de manière Mendélienne avec 50 % de chance pour la descendance de porter à son tour le génome viral intégré. Les deux types de HHV-6 peuvent s'intégrer bien que la littérature rapporte plus de cas impliquant HHV-6 de type B [4].

Les conséquences physiopathologiques de l'intégration chromosomique restent extrêmement débattues. Au-delà des difficultés illustrées par le cas de cette patiente qui sont liées à la confusion diagnostique qu'entraîne l'intégration chromosomique, la question de la réactivation possible à partir de ces provirus intégrés se pose. Si les conditions permettant une éventuelle réactivation *in vivo* du virus HHV-6 vers un cycle productif sont inconnues, ce phénomène peut être induit *in vitro* par des inhibiteurs d'histone deacetylase (HDAC), par certains antibiotiques, et également par certains anti-inflammatoires ou corticoïdes [3]. Ainsi par exemple dans le cas de notre patiente, il ne peut pas être totalement exclu que le traitement par corticoïdes (prednisone) ait pu être un facteur de réactivation endogène de son virus intégré même si le traitement avait été arrêté assez longtemps avant l'épisode neurologique.

Une autre question qui reste controversée est la mise en place d'une thérapeutique antivirale spécifique en présence de signes cliniques chez les patients présentant une intégration chromosomique. À ce jour aucun consensus n'existe, avec des résultats contradictoires suite à l'instauration d'un traitement pour des épisodes de méningo-encéphalites chez des patients avec une intégration chromosomique de HHV-6 [10]. Dans le cas de notre patiente, il n'y a pas d'éléments permettant de rattacher l'amélioration clinique au traitement par ganciclovir, le traitement n'ayant pas eu d'impact significatif sur la charge virale dans le LCR. Pour lever ces ambiguïtés, des approches par étude et quantification des transcrits viraux ont été proposées afin d'évaluer le niveau de réactivation à partir des provirus, ces techniques sont à ce jour en cours d'évaluation par des centres très spécialisés [11].

4. Conclusion

Les étiologies possibles du tableau neurologique de cette patiente restent encore confuses. Si l'imputabilité du virus HHV-6 pouvait être légitimement évoquée devant les résultats moléculaires, il s'avère que le niveau d'immunosuppression relativement faible et surtout la présence d'une intégration chromosomique d'HHV-6 permettent de remettre en cause cette étiologie. Ce cas illustre donc la nécessité d'explorer l'éventualité d'une intégration chromosomique dans ces situations. Cette recherche est simple à réaliser par la mesure de charges virales sanguines alors très élevées ou encore la détection génomique de HHV-6 dans les phanères. Il sera par contre toujours très complexe de trancher entre une détection intrinsèque du génome intégré ou une infection active par réactivation des provirus. Il existe des pistes pour des outils diagnostiques qui permettraient cette distinction, celles-ci incluent des approches moléculaires comme la quantification de la transcription des gènes viraux, des approches antigéniques avec la détection d'antigènes viraux *in situ* ou encore des approches cytologiques. Ces approches sont encore en cours d'évaluation.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts avec le contenu de cet article.

Références

- [1] De Bolle L, Naesens L, De Clercq E. Update on human herpesvirus 6 biology, clinical features and therapy. *Clin Microbiol Rev.* 2005;18:217-245.
- [2] Donati D, Martinelli E, Cassiani-Ingoni R, et al. Variant-specific tropism of human herpesvirus 6 in human astrocytes. *J Virol.* 2005;76:9439-9448.
- [3] Pellett PE, Ablashi DV, Ambros PF, et al. Chromosomally integrated human herpesvirus 6: questions and answers. *Rev Med Virol.* 2012;22:144-155.
- [4] Morissette G, Flamand L. Herpesviruses and chromosomal integration. *J Virol.* 2010;84:12100-12109.
- [5] Zerr DM, Meier AS, Selle SS, et al. A population-based study of primary human herpesvirus 6 infections. *N Engl J Med.* 2005;352:768-776.
- [6] Gautheret-Dejean A, Manichanh C, Thien-Ah-Khoon F, et al. Development of a real-time polymerase chain reaction assay for the diagnosis of human herpesvirus 6 infection and application to bone marrow transplant patients. *J Virol Methods.* 2002;100:27-35.
- [7] Ward KN, Leong HM, Thiruchelvam AD, Atkinson CE, et al. Human Herpesvirus 6 DNA Levels in Cerebrospinal Fluid Due to Primary Infection Differ from Those Due to Chromosomal Viral Integration and Have Implications for Diagnosis of Encephalitis. *J Clin Microbiol.* 2007;45:1298-1304.
- [8] Ward KN, Leong HN, Nacheva EP, et al. Human Herpesvirus 6 Chromosomal Integration in Immunocompetent Patients Results in High Levels of Viral DNA in Blood, Sera, and Hair Follicles. *J Clin Microbiol.* 2006;44:1571-1574.
- [9] Arbuckle JH, Medveczky MM, Luka J, et al. The latent human herpesvirus-6A genome specifically integrates in telomeres of human chromosomes in vivo and in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2010;107:5563-5568.
- [10] Montoya JG, Neely MN, Gupta S, et al. Antiviral therapy of two patients with chromosomally-integrated human herpesvirus-6A presenting with cognitive dysfunction. *J Clin Virol.* 2012;55:40-45.
- [11] Clark DA. Clinical and laboratory features of human herpesvirus 6 chromosomal integration. *Clin Microbiol Infect.* 2016;4:333-339.

DROIT ADMINISTRATIF

(suite de l'étude commencée dans RFL n°491)

La loi pour une république numérique

Consulter un document administratif, en obtenir une copie, sur différents supports et dans les conditions souhaitées par le demandeur, est un élément essentiel pour assurer la transparence administrative. Pour les citoyens, c'est aussi le moyen de poursuivre la réalisation de certains droits.

Accès aux documents administratifs, démocratie et libertés fondamentales entretiennent ainsi des liens étroits. La « loi CADA » a créé en 1978 un droit qui n'allait pas de soi, dans un pays de forte administration où les relations entre les pouvoirs publics et les citoyens étaient marquées par l'inégalité et les prérogatives de la puissance publique.

La loi n° 2016-1321 du 7 octobre 2016 pour une République numérique constitue un effort d'adaptation de la législation française au nouveau monde numérique.

Dans le chapitre « L'étendue du droit d'accès », nous avons commencé à cerner « les documents produits ou reçus par les autorités administratives », le terme d'autorité administrative recouvrant les administrations de l'État, les collectivités territoriales et leurs établissements.

Nous continuons en étudiant brièvement les autres catégories de document administratif.

4. Les documents détenus par les organismes privés chargés d'une mission de service public.

Les personnes morales de droit privé ne sont pas exclues, de ce seul fait, du champ de la loi du 17 juillet 1978. Lorsqu'elles exercent une mission de service public, les documents qu'elles produisent ou reçoivent dans ce cadre sont susceptibles de revêtir un caractère administratif.

Pour déterminer si une personne de droit privé est chargée ou non de la gestion du service public, il y a lieu de faire application des règles dégagées par le Conseil d'État dans sa décision du 22 février 2007, « Association du personnel relevant des établissements pour inadaptés » (paru au recueil Lebon). Au plan général on peut se poser les questions suivantes :

- l'intérêt général qui s'attache à la mission exercée est-il avéré et, le cas échéant, d'une importance particulière ?
- l'organisme a-t-il été créé par la loi ou par la voie réglementaire ?
- l'organisme tire-t-il une grande partie voire la majorité de ses ressources de subventions publiques ?
- les autorités publiques sont-elles représentées au sein de l'organisme, par le biais de représentants, observateurs... ?
- quelles sont les modalités du contrôle qu'exerce la puissance publique sur l'organisme ?
- l'organisme a-t-il conclu avec des personnes publiques des conventions d'objectifs, des contrats d'objectifs et de moyens...



définissant des résultats à atteindre ou des obligations à satisfaire ?

De la réponse à ces questions découlera la solution.

5. Le lien avec la mission de service public

Un document n'est administratif que s'il entretient un lien suffisamment direct avec la mission de service public de l'autorité administrative qui l'a produit ou reçu.

L'ordonnance du 6 juin 2005 a modifié l'article 1^{er} de la loi en précisant que seuls sont considérés comme des documents administratifs les documents produits ou reçus « dans le cadre d'une mission de service public ». En creux, la CADA n'est donc pas compétente pour se prononcer sur le caractère communicable des documents insusceptibles de se rattacher à cette mission et qui revêtent ainsi un caractère purement privé. La simple transmission à une autorité administrative ne suffit pas, en général, à conférer à un document un caractère administratif : il faut, en outre, qu'il s'inscrive dans le cadre de la mission de service public, ce qui nécessite qu'il se rattache à une compétence de cette autorité.

RÉPONSES AUX QUESTIONS DU QCM (pages 63-65)

- | | | |
|---------------|-------------------|-------------|
| 1. B, D | 8. A, C, D | 15. A, B, D |
| 2. A, C, D, E | 9. A, C, E | 16. A, C, D |
| 3. C, D, E | 10. A, D | 17. C, D |
| 4. B, D | 11. B, C | 18. C, D, E |
| 5. B, C, E | 12. A, C | 19. B, E |
| 6. B, C, D, E | 13. A, B, C, D, E | 20. A, C |
| 7. A, E | 14. A, B, D, E | |

Le but de cet article étant de vous informer en vous sensibilisant à un sujet qui peut avoir de l'importance dans votre profession, il n'est pas possible d'être exhaustif, et je vous conseille de consulter le site de la CADA* pour de plus amples informations sur l'étendue du droit d'accès, avec notamment, les actes des assemblées parlementaires, les documents juridictionnels et les documents relevant de l'autorité judiciaire, ainsi que les documents communicables et les secrets protégés.

Vous pourrez ensuite prendre connaissance de l'exercice du droit d'accès et des régimes particuliers de communication.

Nous étudions donc ce qui peut vous intéresser le plus, à savoir «le secret médical».

B. Le secret médical

Ce secret constitue un des «droits essentiels» de la personne selon l'article L. 1110-4 du Code de la santé publique. Il protège les «informations relatives à la santé» au sens de l'article L. 1111-7 du même Code.

1. Définition des informations relatives à la santé

L'article L. 1111-7, dans sa rédaction issue de la loi du 4 mars 2002, garantit à toute personne l'accès à «*l'ensemble des informations concernant sa santé détenues par des professionnels et établissements de santé, qui sont formalisées et ont contribué à l'élaboration et au suivi du diagnostic et du traitement d'une action de prévention, ou ont fait l'objet d'échanges écrits entre professionnels de santé*». Il s'agit notamment du «dossier médical» ouvert dans le cadre d'une hospitalisation, qui contient les informations et documents énumérés à l'article R. 1112-2 du même Code.

Pour qu'un document ou une information revête un caractère médical, il faut qu'il ait été élaboré ou recueilli par un professionnel de santé, et qu'il ait concouru à l'élaboration et au suivi du diagnostic et du traitement ou bien ait fait l'objet d'une correspondance entre professionnels de santé. Il peut s'agir :

- de résultats d'examen, de radiographies, de clichés d'IRM ;
- de comptes rendus de consultation, d'intervention, d'exploration ou d'hospitalisation ;
- de protocoles et prescriptions thérapeutiques mises en œuvre ;
- de feuilles de surveillance ;
- d'un protocole encadrant les missions confiées à un médecin par une caisse de sécurité sociale dans le cadre de la déclaration d'un accident du travail, ou encore du protocole intervenu entre le médecin traitant du patient et le médecin-conseil de la caisse ;
- des correspondances entre professionnels de santé, par exemple entre le centre d'accueil et de soins aux conduites addictives (CASA) et un centre hospitalier ou médico-social ;
- des certificats médicaux ;
- des avis médicaux émanant d'un médecin ;
- des enregistrements vidéo de séances de thérapie familiale ;
- des enregistrements sonores des conversations téléphoniques entre un professionnel de santé et le SAMU dans le cadre de la prise en charge d'un patient ;
- le rapport établi par la commission départementale des hospitalisations psychiatriques dans le cadre des hospitalisations d'office ou à la demande d'un tiers.

Ces documents n'ont pas à être complètement formalisés ils peuvent être manuscrits. Ils sont, en général, établis par un professionnel de santé. Les documents établis par une autorité administrative et non par un médecin, comme les arrêtés d'hospitalisation d'office, des rapports d'enquête sociale ou des bilans psychologiques, ne sont pas «médicaux», sauf s'ils sont joints à un dossier médical. Toutefois, des notes informelles mais achevées figurant au dossier médical et ayant concouru à l'établissement du diagnostic entrent dans ce cadre, alors même que la qualité de professionnel de santé de leur auteur n'est pas avérée.

2. Autres informations qui peuvent figurer dans le dossier médical

a) Règles de communication des informations médicales

Les informations à caractère médical ne peuvent être communiquées qu'à la personne à laquelle elles se rapportent et aux personnes intéressées. Les tiers n'y ont pas accès, sauf avec l'accord du patient.

L'article R. 1111-1 du Code de la santé publique énumère les «*intéressés*» qui peuvent prétendre à la communication de ces informations. Il s'agit :

- des patients eux-mêmes ; les parents des enfants devenus majeurs ne peuvent plus accéder au dossier de leurs enfants ;
- du ou des parent(s) d'un enfant mineur, à la condition qu'il ne soit pas privé de l'autorité parentale sur l'enfant. Toutefois, aux termes de l'article L. 1111-5 du Code de la santé publique, un mineur peut s'opposer à la communication de documents médicaux se rapportant à un traitement ou à une intervention chirurgicale réalisés à l'insu de ses parents ou des titulaires de l'autorité parentale. Dans ce cas, le médecin consigne par écrit cette opposition et il doit s'efforcer d'obtenir le consentement de la personne mineure à la communication ;
- du tuteur d'une personne sous tutelle, ou encore de son administrateur légal. Le dossier peut aussi être communiqué à la personne sous tutelle, mais avec l'accord ou en la présence du tuteur ou de l'administrateur légal. En revanche, le curateur ne tire du Code de la santé publique aucun droit d'accès au dossier médical de la personne sous curatelle ;



- des ayants droit en cas de décès de la personne : le dernier alinéa de l'article L. 1110-4 du Code de la santé publique fixe l'étendue de leurs droits.

À l'inverse sont considérés comme « tiers » : l'enfant mineur demandant la communication de son dossier médical ; les époux l'un pour l'autre ; le juge civil, les compagnies d'assurance.

Toutefois, eu égard au secret professionnel auquel il est astreint et à la nécessité pour les établissements de santé de recourir à un conseil juridique dans le cadre des litiges qui les opposent aux patients, l'avocat de l'établissement de santé peut avoir accès aux seules informations médicales qui sont strictement nécessaires à la défense des droits de l'établissement. En revanche, le médecin qui communique à son avocat des pièces qui ne sont pas nécessaires pour assurer sa défense commet une faute.

Lorsque le patient est atteint d'une affection grave, les tiers peuvent avoir accès à certaines informations :

- en cas de diagnostic ou de pronostic grave, le secret médical ne s'oppose pas à ce que la famille, les proches de la personne malade ou la personne de confiance prévue à l'article L. 1111-6 CSP reçoivent les informations permettant d'apporter un soutien direct à celle-ci, sauf opposition de sa part (6^e alinéa de l'article L. 1110-4) : il s'agit par exemple de la communication au conjoint d'une personne victime d'un grave accident du travail d'un certificat médical relative à cette dernière, qui faciliterait la prise en charge par une compagnie d'assurances des frais médicaux et d'hospitalisation et permettrait ainsi au conjoint d'apporter un soutien direct à la victime ;
- lorsque la personne n'est plus en état d'exprimer sa volonté, l'article L. 1111-4 impose l'information (et la consultation) de la personne de confiance, de la famille ou, à défaut, des proches, sur son état de santé.

L'administration ne peut invoquer le caractère préparatoire de l'information ou du document médical pour en refuser la communication : ainsi, un rapport d'expertise élaboré dans le cadre d'une procédure en cours devant un comité médical est communicable immédiatement à l'intéressé. Un questionnaire médical établi à l'attention d'une commission de réforme est communicable immédiatement, même si cette commission n'a pas rendu son avis.

b) Conditions d'accès des ayants droit

Dans le cas des ayants droit, trois conditions doivent être satisfaites :

- le demandeur doit justifier de sa qualité d'ayant droit, et non simplement de « proche ». Sont seuls visés les successeurs légaux du défunt, définis conformément aux dispositions des articles 731 et suivants du Code civil (héritiers, conjoint survivant...), immédiats ou résultant de l'ordre de succession, qu'ils aient ou non renoncé à la succession, ainsi que les successeurs testamentaires (voir l'arrêté du 3 janvier 2007 modifiant l'arrêté du 5 mars 2004 portant homologation des recommandations de bonnes pratiques relatives à

l'accès aux informations concernant la santé d'une personne). L'opposition d'un ou de plusieurs ayants droit ou un risque de conflits entre ayants droit ne peut faire obstacle à l'accès des autres ayants droit aux informations médicales. En vertu de l'article R. 1111-1 du Code de la santé publique, il appartient à l'administration de s'assurer par tous moyens que le demandeur peut se prévaloir de la qualité d'ayant droit (acte de notoriété, certificat d'hérédité...);

- l'intéressé décédé ne doit pas avoir exprimé d'opposition de son vivant à une telle communication ;
- la démarche des ayants droit ne doit être motivée que par le souci de « connaître les causes de la mort, de défendre la mémoire du défunt ou de faire valoir leurs droits » (CE, 26 septembre 2005, Conseil national de l'Ordre des médecins, p. 395). À cet égard, l'article R. 1111-7 du Code de la santé publique prévoit que les demandes de communication d'informations médicales formulées par les ayants droit indiquent le ou les motifs qui les fondent. Seules les pièces qui concourent à la poursuite de l'objectif indiqué pourront être communiquées. En revanche, l'établissement ou la confirmation d'une filiation ne sont pas au nombre des objectifs légaux ouvrant droit à communication. Toutefois, les dossiers médicaux deviennent librement communicables à toute personne (y compris à celles qui ne justifient pas de la qualité d'ayant droit) à l'expiration d'un délai de 25 ans à compter du décès d'une personne, ou de 120 ans à compter de la date de sa naissance si la date de son décès n'est pas connue, en vertu du 2^o du I de l'article L. 213-2 du code du patrimoine.

C. Modalités du droit d'accès

Jusqu'à l'entrée en vigueur de la nouvelle loi, l'accès aux documents administratifs s'exerçait, au choix du demandeur, selon trois moyens :

- par consultation gratuite sur place ;
- par la délivrance, aux frais du demandeur, d'une copie du document sur un support identique à celui utilisé par l'administration ou compatible avec celui-ci ;
- par courrier électronique, et sans frais, lorsque le document est disponible sous forme électronique.

Désormais, le demandeur peut aussi exiger que les documents souhaités soient publiés en ligne. Cette possibilité ne concerne cependant pas les documents qui ne sont communicables qu'à la personne directement intéressée.

D. Recours contre un refus d'accès

Aucune modification majeure n'est apportée à l'organisation particulière du contentieux des décisions par lesquelles une administration oppose un refus au demandeur. On rappelle qu'avant de saisir le juge administratif d'un recours contre ce refus, l'intéressé doit solliciter de la CADA un avis sur le bien-fondé de la décision qui lui est opposée. Cet avis, qu'il soit ou non favorable à la communication, ne lie pas l'appréciation de l'administration en cause.

Le demandeur doit s'adresser à la CADA dans un délai de deux mois qui commence à courir soit à la date à laquelle un refus express lui est notifié, soit un mois après que l'administration a reçu la demande, si, entre-temps, elle n'a pas expressément répondu. De son côté, la Commission dispose d'un délai d'un mois pour faire connaître son avis. ■■

* <http://www.cada.fr//l-acces-aux-documents-administratifs,1.html>

TEXTES JURIDIQUES

Ministère des Affaires sociales et de la Santé (JO du 2/3/2017)

Arrêté du 20 février 2017 fixant le modèle du formulaire « Demande de retraite progressive »

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000034111969&dateTexte=&categorieLien=id>

Ministère des Affaires sociales et de la Santé (JO du 3/3/2017)

Arrêté du 2 mars 2017 suspendant les annexes I et II de l'arrêté du 2 août 2013 fixant les conditions d'immunisation des personnes mentionnées à l'article L. 3111-4 du code de la santé publique [Quelle protection contre le VHB ?]

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000034128617&dateTexte=&categorieLien=id>

Ministère du Travail, de l'Emploi et de la Formation professionnelle (JO du 3/3/2017)

Arrêté du 23 février 2017 portant enregistrement au Répertoire national des certifications professionnelles

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000034128729&dateTexte=&categorieLien=id>

Ministère des Affaires sociales et de la Santé (JO du 5/3/2017)

Décret n° 2017-281 du 2 mars 2017 approuvant le référentiel national de réduction des risques en direction des personnes prostituées et complétant le code de la santé publique

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000034134336&dateTexte=&categorieLien=id>

Commission Nationale Consultative des Droits de l'Homme (JO du 5/3/2017)

Avis « usages de drogues et droits de l'homme »

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000034134859&dateTexte=&categorieLien=id>

Avis sur le droit de vote des personnes handicapées Citoyenneté et handicap : « Voter est un droit, pas un privilège (1) »

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000034134966&dateTexte=&categorieLien=id>

Ministère des Affaires sociales et de la Santé (JO du 7/3/2017)

Arrêté du 27 février 2017 relatif au traitement automatisé de données à caractère personnel dénommé « portail de signalement des événements sanitaires indésirables »

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000034150842&dateTexte=&categorieLien=id>

Arrêté du 27 février 2017 fixant la liste des catégories d'événements sanitaires indésirables pour lesquels la déclaration ou le signalement peut s'effectuer au moyen du portail de signalement des événements sanitaires indésirables

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000034150863&dateTexte=&categorieLien=id>

Commission nationale de l'informatique et des libertés (JO du 7/3/2017)

Délibération n° 2016-325 du 3 novembre 2016 portant avis sur un projet d'arrêté relatif au traitement automatisé de données à caractère personnel dénommé « Portail de signalement des événements sanitaires indésirables » (demande d'avis n° 16016139)

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000034151323&dateTexte=&categorieLien=id>

Ministère de l'Environnement (JO du 8/3/2017)

Décret n° 2017-291 du 6 mars 2017 relatif aux conditions de mise en œuvre de l'interdiction de mise sur le marché des produits cosmétiques rincés à usage d'exfoliation ou de nettoyage comportant des particules plastiques solides et des bâtonnets ouatés à usage domestique dont la tige est en plastique

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000034154540&dateTexte=&categorieLien=id>

Ministère de l'Agriculture (JO du 8/3/2017)

Arrêté du 7 mars 2017 modifiant l'arrêté du 4 janvier 2017 définissant les zones géographiques dans lesquelles un abatage préventif est ordonné en application de l'arrêté du 4 janvier 2017 relatif aux mesures complémentaires techniques et financières pour la maîtrise de l'épizootie d'influenza aviaire due au virus H5N8 dans certains départements

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000034154884&dateTexte=&categorieLien=id>

Ministère des Affaires sociales et de la Santé (JO du 9/3/2017)

Arrêté du 10 février 2017 fixant la liste des indicateurs obligatoires pour l'amélioration de la qualité et de la sécurité des soins et les conditions de mise à disposition du public de certains résultats par l'établissement de santé

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000034157404&dateTexte=&categorieLien=id>

Arrêté du 10 février 2017 relatif au bilan annuel des activités de lutte contre les infections nosocomiales dans les établissements de santé

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000034157424&dateTexte=&categorieLien=id>

Arrêté du 7 mars 2017 fixant la liste des centres nationaux de référence, des centres nationaux de référence-laboratoires associés et des centres nationaux de référence-laboratoires experts pour la lutte contre les maladies transmissibles [Mise à jour de la liste des CNR]

Texte accessible sur : <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000034157437&dateTexte=&categorieLien=id>

ÉCHOS PARLEMENTAIRES

Exposition des populations aux pesticides

André Trillard, sénateur, attire l'attention du ministère de l'Environnement sur une récente émission : *Cash Investigation*, sur les méfaits des pesticides et leur répartition sur le territoire, certains départements, ayant même été qualifiés de *zones noires* ! Eu égard aux réactions nombreuses qui ont suivi l'émission, s'agissant de la rigueur des données présentées et de la validité des méthodes utilisées, il souhaiterait savoir si des statistiques officielles du gouvernement corroborent les chiffres et faits avancés. Plus récemment, une étude conduite par l'association *Génération Futures* a montré que les personnes vivant près des zones cultivées sont exposées toute l'année aux pesticides, dont nombre pourraient être des perturbateurs endocriniens. Quelles mesures sont attendues pour encourager l'usage de pratiques agricoles raisonnées pour les cultures situées à proximité de zones habitées ? Soulignant enfin que ce travail a d'autre part montré l'urgence de la publication d'une définition précise des perturbateurs endocriniens par la Commission européenne, il demande de lui indiquer quelles actions le ministère compte mener pour obtenir cette publication essentielle en termes de protection

De nombreux résultats d'études convergent quant aux risques pour la santé encourus par les riverains des parcelles agricoles intensivement traitées avec des produits phytopharmaceutiques, répond le ministère de l'Environnement. L'expertise collective *Pesticides et Santé* de l'INSERM a confirmé les risques liés à une exposition répétée aux pesticides *via* l'air. Des enquêtes et des tests d'imprégnation des populations par des substances chimiques sont conduits par le milieu associatif et sont portés à la connaissance de nos concitoyens par les médias.

Il est nécessaire de progresser sur la protection des populations vivant à proximité des parcelles traitées et de préserver les personnes les plus vulnérables. Un encadrement de l'application des phytopharmaceutiques dans et à proximité de lieux publics, tels ceux recevant des personnes vulnérables, a été introduit dans la Loi d'avenir pour l'alimentation, l'agriculture et la forêt du 13/10/2014. Une instruction du ministère de l'Environnement a été envoyée aux préfets pour que des mesures réglementaires soient prises pour protéger les lieux accueillant les enfants, les personnes malades et les personnes âgées. Des arrêtés ont été pris en Gironde ou dans le Haut-Rhin pour mettre en place des interdictions de traitement aux *horaires sensibles* et instaurer des *distances d'éloignement* des zones traitées en fonction de la mise en place de barrières physiques telles que des haies.

Ce travail d'encadrement réglementaire doit être poursuivi pour réduire l'exposition des populations en incitant à l'évolution des pratiques agricoles dans ces zones. Des outils d'information à destination des populations vulnérables, des riverains de zones agricoles et des usagers de pesticides seront développés et les *bonnes pratiques* favorisées. Il est demandé à l'Agence nationale de santé publique (ANSP) d'entreprendre *une étude d'imprégnation multisites* chez des riverains de zones agricoles afin d'évaluer l'exposition aux phytopharmaceutiques à proximité. Le développement d'outils et d'applications permettant une surveillance des pesticides dans l'air sera soutenu.



Un projet de recherche, d'innovation et de développement d'*alternatives aux produits phytosanitaires* sera mis en place. Par ailleurs l'initiative française que constitue la *stratégie nationale sur les perturbateurs endocriniens* vise à soutenir les actions de recherche dans le sens d'un renforcement du cadre réglementaire sur les substances chimiques. Une position ambitieuse est portée par la France au niveau européen afin d'éliminer les substances suspectes qui présentent ce caractère de danger. ■

J.-M. M.

Danger sels d'aluminium : pas seulement dans les vaccins ?

On sait qu'il existe une cabale contre la présence de sels d'aluminium dans certains vaccins comme adjuvants. Le sénateur François Bonhomme les désigne à l'attention du ministère de la Santé du fait de leur présence dans les déodorants et anti-transpirants, citant une étude sur leur danger, publiée par des chercheurs et oncologues suisses. Leurs recherches ont commencé en 2009, après le constat d'une *hausse inquiétante* de cancers du sein localisés à côté du creux de l'aisselle (*sic*) chez des femmes jeunes. Selon ces chercheurs, le réquisitoire contre les déodorants contenant de l'aluminium, soupçonné d'être cancérigène, s'alourdit. Après des premières études *in vitro*, ils ont étudié un modèle animal (souris) montrant que les déodorants contenant des sels d'aluminium provoquent des tumeurs. Par ailleurs, les consommateurs se sont tournés de plus en plus vers la *Pierre d'alun*, présentée il y a quelques années comme le meilleur déodorant naturel. Or, l'aluminium est présent dans sa composition et peut pénétrer dans l'organisme. L'ANSM s'est penchée sur la question dès 2011 en formulant certaines recommandations, mais cet avis n'est pas opposable aux industriels et les déodorants relèvent de la réglementation européenne. Or en 2014, la Commission européenne a estimé que faute de données adéquates, *l'évaluation du risque ne peut être estimée*. Devant l'accumulation des indices à charge, et sur la base du principe de précaution, le gouvernement entend-il informer au mieux le consommateur, voire saisir les autorités de Bruxelles.

Réponse du Ministère de la Santé : la composition des produits cosmétiques est encadrée par une législation européenne qui prévoit notamment l'interdiction ou la restriction de l'usage de substances, afin de garantir la sécurité du consommateur, sur la base d'études scientifiques visant à évaluer leur sécurité pour la population. Dans ce cadre, l'utilisation de l'aluminium dans les produits cosmétiques, et plus particulièrement dans les



anti-transpirants ou déodorants, a fait l'objet d'un rapport de l'ANSM en octobre 2011. L'ANSM y indique qu'aucun élément ne met en évidence le lien entre une exposition par voie cutanée à l'aluminium et l'apparition d'un cancer. Toutefois, afin de limiter le niveau global d'exposition à cette substance, l'ANSM recommande dans ce rapport de restreindre la concentration d'aluminium (sous toutes ses formes) dans les produits cosm-

métiques à 0,6 % et de ne pas utiliser les produits contenant de l'aluminium juste après le rasage ou sur peau lésée, compte tenu de la forte absorption rapportée dans ces conditions.

Destinataire de ce rapport, le Comité scientifique pour la sécurité des consommateurs (CSSC), comité consultatif de l'Union européenne, a considéré, dans un avis de mars 2014 sur la sécurité de l'aluminium dans les produits cosmétiques, qu'en l'état actuel des connaissances, l'aluminium est peu susceptible d'être cancérogène. Il ajoute qu'il n'existe aucune preuve que l'utilisation de produits anti-transpirants puisse conduire à des niveaux d'aluminium préjudiciables à la santé, ni que l'utilisation de produits cosmétiques contenant de l'aluminium augmente le risque de cancer du sein ou de maladie d'Alzheimer, de maladie de Parkinson et autres maladies neurodégénératives.

Par ailleurs, en septembre dernier, les autorités françaises ont signalé à la Commission européenne les travaux des chercheurs et oncologues suisses, afin que le CSSC évalue si ces études pourraient le conduire à modifier ses conclusions antérieures. Il a également été demandé à la Commission qu'une communication spécifique soit réalisée auprès des consommateurs et des États membres. Les autorités françaises restent vigilantes quant aux suites apportées par la Commission européenne sur ce sujet. ■■

J.-M. M.

Y a-t-il un financement pour les cancers pédiatriques ?

Le député Jean-Claude Buisine interpelle le ministère de la Santé sur la recherche et les conditions de traitement des cancers des enfants. En France, le nombre de nouveaux cas de cancers chez les enfants et les adolescents augmente progressivement depuis 1970. Chaque année, plus de 500 enfants et ados décèdent d'un cancer, première cause de mortalité des enfants par maladie. Alors qu'on pourrait penser qu'ils sont prioritaires en termes de recherche et de traitement, ce n'est pas le cas en France, où la recherche est essentiellement axée sur les cancers des adultes et moins de 2 % des fonds dédiés à la recherche anticancer sont attribués aux cancers pédiatriques. Des vies pourraient être préservées ou prolongées avec un traitement individualisé et non une *voie palliative*. Par conséquent, peut-on lui préciser les mesures du gouvernement face à ce sujet sensible.

L'effort de recherche français sur les cancers pédiatriques, dans le cadre des deux premiers Plans Cancer, représente un financement de 38 millions d'euros, sur un budget total de recherche pour les cancers estimé à 350 millions d'euros, soit

10 % du financement de la recherche publique en cancérologie, répond le ministère.

Le développement d'anticancéreux pédiatriques accuse un retard sur la cancérologie des adultes et pas seulement France. À l'INCa en janvier 2014, les organismes publics et caritatifs, financeurs de la recherche sur le cancer de 23 pays, ont fait du développement des médicaments pédiatriques une des 5 priorités de recherche. La mise à disposition d'un médicament suppose un effort de recherche, principalement fondamentale, pour identifier de nouveaux mécanismes biologiques et cibles thérapeutiques, et *un effort de R et D industriel privé* pour concevoir et mettre à disposition une molécule ciblant ces mécanismes. On peut aussi proposer aux enfants en échec thérapeutique les molécules innovantes développées pour l'adulte, dans le cadre d'essais cliniques encadrés.



Ainsi, les financements supplémentaires pour la recherche fondamentale académique ne garantissent pas que soient développés des médicaments. *Mais si ces financements supplémentaires étaient obtenus par une taxe, on ne peut exclure un désengagement des industriels en pédiatrie, qui en s'acquittant de la taxe pourraient se sentir dédouanés de développer de nouveaux médicaments. Curieux raisonnement du ministère* (NDLR).

La stratégie de recherche portée par l'INCa dans le Plan Cancer 2014-2019, repose sur 3 axes complémentaires : réaliser le séquençage complet du génome des tumeurs de l'enfant d'ici à la fin du Plan, à la recherche de nouvelles cibles thérapeutiques ; favoriser la mise en place d'essais cliniques innovants chez l'enfant, en s'appuyant sur un groupe coopérateur national rassemblant oncologues pédiatres, chercheurs et associations de parents ; structuration territoriale de centres d'essais cliniques de phase précoce en pédiatrie (CLIP2).

L'INCa négocie avec les industries du médicament pour les inciter à proposer systématiquement leurs molécules chez l'enfant dans le cadre du programme CLIP2. Il soutient au niveau européen la révision en 2017 du règlement européen relatif aux médicaments à usage pédiatrique, afin de rendre la réglementation plus incitative d'essais cliniques de nouvelles molécules. ■■

Jean-Marie Manus